

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI DIET TINGGI LEMAK DAN MSG  
BERBAGAI DOSIS TERHADAP SEL EPITEL SEKRETORIK DAN OTOT  
POLOS TUBA FALOPI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus novvergicus*) GALUR  
WISTAR**

**TUGAS AKHIR  
Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



**Oleh:**

**Rizka Dwi Hastuti**

**NIM 145070607111007**

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

## Daftar ISI

## Halaman

Judul.....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan .....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak .....	vi
<i>Abstarct</i> .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar Gambar .....	ix
Daftar Tabel.....	x
Daftar Singkatan .....	xi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Akademis .....	3
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Monosodium Glutamat .....	5
2.1.1 Efek Monosodium Glutamat.....	5
2.2 Glutamat.....	7
2.3 Diet Tinggi Lemak.....	10
2.3.1 Efek Diet Tinggi Lemak .....	10
2.4 Siklus Reproduksi Wanita.....	12
2.5 Tuba Falopi .....	14
2.6 Stres Oksidatif .....	18
2.7 Efek Nutrisi Terhadap Stres Oksidatif .....	19
2.8 Hewan Coba.....	21
2.7.1 Tikus Wistar ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	21
2.7.2 Oviduk Tikus.....	24
2.7.3 Siklus Reproduksi.....	24
2.7.4 Kebutuhan Pakan Tikus.....	26
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
3.1 Kerangka Konsep.....	28
3.2 Hipotesis Penelitian .....	30
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	31
4.2 Populasi dan Sampel.....	31
4.2.1 Besar sampel.....	31
4.2.2 Kriteria inklusi dan kriteria eksklusi .....	33

4.3 Variabel Penelitian .....	33
4.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	34
4.5 Bahan dan Alat Penelitian .....	34
4.5.1 Alat Penelitian .....	34
4.5.2 Bahan Penelitian .....	35
4.5.2.1 Bahan Konsumsi Pakan Tikus .....	35
4.5.2.2 Bahan Pembedahan Hewan Coba .....	35
4.5.2.3 Bahan Pengecekan Histologi .....	35
4.6 Definisi Operasional .....	36
4.7 Prosedur Penelitian .....	37
4.7.1 Adaptasi .....	37
4.7.2 Pemberian Pakan Tikus Diet Normal .....	39
4.7.3 Pemberian Pakan Tikus Diet Tinggi Lemak .....	39
4.7.4 Pemberian MSG Pada Tikus .....	40
4.7.5 Pembedahan Tikus dan Pengambilan Sampel .....	40
4.7.6 Pembuatan Preparat Tuba Falopi .....	41
4.7.7 Pengamatan Ketebalan Otot Polos dan Sel Epitel Sekretorik Tuba Falopi .....	42
4.7.8 Skema Alur Penelitian .....	44
4.8 Analisa Data .....	45
4.9 Etik Penelitian .....	45
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN</b> .....	48
5.1 Pengamatan Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Falopi .....	48
5.2 Pengamatan Ketebalan Otot Polos Tuba Falopi .....	52
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b> .....	55
<b>BAB 7. PENUTUP</b> .....	60
7.1 Kesimpulan .....	60
7.2 Saran .....	60
<b>Daftar Pustaka</b> .....	61
<b>Lampiran</b> .....	67

## Daftar Gambar

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur kimia glutamat.....	7
Gambar 2.2 Produksi estrogen oleh folikel ovarium .....	13
Gambar 2.3 Tuba falopi dibagi menjadi 4 bagian .....	14
Gambar 2.4 Tuba falopi .....	15
Gambar 2.5 Tuba falopi: lapisan otot .....	16
Gambar 2.6 Ampula, terdapat sel silia dan sel sekretorik.....	16
Gambar 2.7 Tuba falopi: sel peg atau sel sekretorik dan sel silia .....	17
Gambar 2.8 Pengaruh nutrisi terhadap stres oksidatif .....	20
Gambar 2.9 Tikus <i>Rattus novergicus</i> galur wistar .....	23
Gambar 5.1 Siklus proestrus .....	48
Gambar 5.2 Pemeriksaan histopatologi jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi .	49
Gambar 5.3 Perbandingan rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi.....	51
Gambar 5.4 Pemeriksaan histopatologi sel otot polos tuba falopi .....	52
Gambar 5.5 Perbandingan rerata tebal lapisan otot polos tuba falopi .....	54



Daftar Tabel

	Halaman
Tabel 2.1 Parameter fisiologis reproduksi dan biologis tikus putih .....	23
Tabel 4.1 Alat penelitian .....	34
Tabel 4.2 Definisi operasional.....	36
Tabel 4.3 Bahan pembuatan diet normal .....	39
Tabel 4.4 Bahan pembuatan diet tinggi lemak .....	40
Tabel 5.1 Sel epitel sekretorik tuba falopi .....	50
Tabel 5.2 Hasil uji LSD sel epitel sekretorik tuba falopi .....	51
Tabel 5.3 Otot polos tuba falopi .....	53
Tabel 5.4 Hasil uji LSD tebal otot polos tuba falopi .....	54



## Daftar Singkatan

AGEs	= <i>Advanced Glycation End Products</i>
BMI	= <i>Body Mass Index</i>
CVD	= <i>Cardiovascular Disease</i>
DAG	= <i>Diacylglycerol</i>
FFA	= <i>Free Fatty Acids</i>
FSH	= <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	= <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
HDL	= <i>High Density Lipoprotein</i>
HFD	= <i>High Fat Diet</i>
LDL	= <i>Low Density Lipoprotein</i>
LH	= <i>Luteinizing Hormone</i>
MSG	= <i>Monosodium Glutamate</i>
OH	= <i>Radikal Hidroksil</i>
PCOS	= <i>Polycystic Ovarian Syndrome</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
TG	= <i>Trigliserida</i>
VLDL	= <i>Very Low Density Lipoprotein</i>







HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

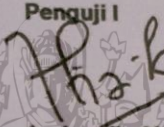
PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI DIET TINGGI LEMAK DAN MSG  
BERBAGAI DOSIS TERHADAP SEL EPITEL SEKRETORIK DAN OTOT  
POLOS TUBA FALOPPI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR  
WISTAR

Oleh:

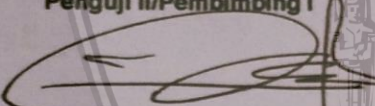
Rizka Dwi Hastuti  
NIM 145070607111007

Telah diuji pada  
Hari: Senin  
Tanggal: 29 Januari 2018  
Dan dinyatakan lulus oleh:

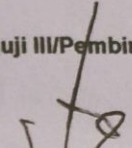
Penguji I

  
dr. Nia Kurnianingsih, M.Biomed  
NIK. 2011068404072001

Penguji II/Pembimbing I

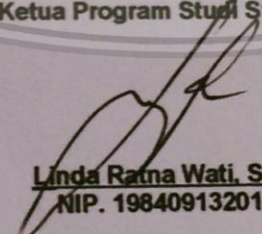
  
dr. Dewi Mustika, M.Biomed  
NIK. 2016078711152001

Penguji III/Pembimbing II

  
dr. Anin Indriani, SpOG  
NIK. 2016098007042001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan

  
Linda Ratna Wati, SST, M.Kes  
NIP. 198409132014042001



## ABSTRAK

Hastuti, Rizka Dwi. 2018. **Pengaruh Pemberian Kombinasi Diet Tinggi Lemak Dan MSG Berbagai Dosis Terhadap Sel Epitel Sekretorik Dan Otot Polos Tuba Falopi Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Galur Wistar**. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Dewi Mustika, M.Biomed (2) dr. Anin Indriani, SpOG.

Beberapa penelitian membuktikan konsumsi diet tinggi lemak (DTL) dapat mengakibatkan gangguan organ reproduksi, selain diet tinggi lemak beberapa penelitian telah membuktikan bahwa pemberian penyedap rasa *Monosodium Glutamate* (MSG) dapat mempengaruhi organ reproduksi yang dapat menyebabkan infertilitas. Namun, dosis MSG yang digunakan melebihi dosis rata rata konsumsi harian manusia. Maka dari itu, penelitian ini akan melihat pengaruh kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis yang disesuaikan dengan konsumsi harian manusia terhadap sel epitel sekretorik dan otot polos tuba falopi. Penelitian ini menggunakan tikus putih *Rattus novergicus* betina dengan usia 6-8 minggu dan berat 140-200 gram. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dilakukan selama 56 hari yang terdiri dari 6 kelompok yaitu kontrol negatif, DTL (K+1), MSG 0,7mg/gBB (K+2), DTL+MSG 0,05mg/gBB (PI), DTL+MSG 0,2 mg/gBB (PII), DTL+MSG 0,35mg/gBB (PIII). Pemberian MSG dilakukan peroral dengan sonde selama 56 hari dan pemberian diet tinggi lemak diberikan secara *ad-libitum*. Tikus dibedah pada hari ke 57- 61 pada saat tikus mencapai fase proestrus. Pada tikus yang belum mencapai fase proestrus pada lebih dari hari ke-61 akan dieksklusi. Pengamatan sel epitel sekretorik tuba falopi dilakukan oleh peneliti dengan 12 lapang pandang dan pengukuran ketebalan otot polos tuba falopi dilakukan oleh peneliti dengan 12 titik. Hasil uji *one way* ANOVA, rerata jumlah sel epitel sekretorik ( $p=0,008$ ) dan ketebalan otot polos tuba falopi ( $p=0,001$ ) pada kelompok yang diberikan kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dosis rendah menurun secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Namun tidak signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif diet tinggi lemak saja (K+1) dan MSG dosis tinggi 0,7mg/Gbb (K+2). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian MSG dosis rendah jika dikombinasikan dengan diet tinggi lemak akan menghasilkan penurunan rerata jumlah sel epitel sekretorik dan penipisan ketebalan otot polos tuba falopi yang sama dengan pemberian MSG dosis tinggi. Pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat mengakibatkan gangguan hormonal pada tikus yang mengakibatkan terganggunya fungsi tuba falopi.

Kata kunci: diet tinggi lemak, MSG, tuba falopi

## ABSTRACT

Hastuti, Rizka Dwi. 2018. **The Effect of High-Fat Diet and Various Doses of MSG Combination on Secretory Epithelial Cell and Smooth Muscle of Fallopian Tube of White Rat Strain Wistar (*Rattus novergicus*)**. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Dewi Mustika, M.Biomed (2) dr. Anin Indriani, SpOG.

Several studies have proved that the consumption of a high-fat diets (HFD) can lead to disorders of the reproductive organs. In addition to high-fat diets, some research also proved that the given of flavor enhancer, Monosodium Glutamate (MSG), can affect reproductive organs to raise the possibility of infertility. However, the mentioned cases occur when the doses of MSG used exceeds the average daily consumption of a human. Therefore, this research will be focused at the effect of the combination of various doses in High Fat Diets and MSG, which adjusted to human's needs in daily basis, against the secretory epithelial cells and smooth muscle of fallopian tubes. The object used in this research was a white rat *Rattus novergicus* females in age of 6-8 weeks and weighed of 140-200 grams. Research was done in the Laboratory of Physiology and Pathology of Anatomy, Faculty of Medicine University of Brawijaya. The research was conducted in 56 day long consisting of 6 groups: the negative control, HFD (K + 1), MSG 0, 7mg/gBB (K + 2), HFD + MSG 0, 05mg/gBB (PI), HFD + MSG 0.2 mg/gBB (PII), HFD + MSG 0, 35mg/gBB (PIII). The MSG supply is done with sonde via oral for 56 days and high-fat diets supply is given in ad-libitum. Rat is dissected on day 57 - 61 once they reached the proestrus phase. The rats which had not be in the proestrus phase on day 61 will be excluded. Observations of secretory epithelial cells of fallopian tubes are done by researchers with 12 views and smooth muscle thickness measurement of fallopian tubes is done by 12 points. One way ANOVA test result shows the average amount of secretory epithelial cells ( $p = 0.008$ ) and smooth muscle thickness of fallopian tubes ( $p = 0.001$ ) in the group that was given a low dose combination of a high-fat diets and MSG is significantly decreased compared to the negative control. Yet, it was not significant enough when compared to the high-fat diet of positive controls (K + 1) and MSG high doses 0, 7mg/Gbb (K + 2). In the conclusion, the study proved that low dose of MSG supply when combined with a high-fat diet will result in the same decreasing of the average number of secretory epithelial cells and the thinning of smooth muscle thickness of the fallopian tubes with administering the high doses of MSG. The effect of a combination a high-fat diet and MSG can cause hormonal disturbances in rats that resulted in disruption of the functions of the fallopian tube.

Keywords: High Fat Diet, Monosodium Glutamate, Fallopian Tubes

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Di Indonesia, berdasarkan *national, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990* rata rata pada tahun 1990-2010 prevalensi infertilitas primer yaitu 2%-2,99% sedangkan prevalensi infertilitas sekunder sebesar >13%. Meskipun angka prevalensi infertilitas tidak meningkat signifikan, namun usaha dalam menurunkan infertilitas telah menjadi prioritas utama bagi beberapa organisasi kesehatan (Mascarenhas *et al.*, 2012)

Saat ini, faktor gaya hidup dapat mempengaruhi kesehatan reproduksi dan bisa mempengaruhi secara negatif atau positif terhadap fertilitas. Berdasarkan penelitian Karsiyah (2015) di wilayah kecamatan Way Seputih, Kabupaten Lampung Tengah, masyarakat dengan gaya hidup tidak sehat yang terdiri dari paparan zat kimia, pola istirahat, pola dan jenis makan (*junkfood*), aktivitas berlebih dan obat-obatan 11 kali mempunyai resiko mengalami infertilitas primer dibandingkan dengan yang mempunyai gaya hidup sehat. Selain gaya hidup tidak sehat, status gizi juga berpengaruh terhadap infertilitas, pada penelitian Karsiyah (2015) mengatakan bahwa terdapat hubungan status gizi dengan infertilitas primer yaitu status gizi tidak normal ( $BMI < 18,5$  dan  $\geq 25,0$ ) yakni 3 kali mempunyai resiko mengalami infertilitas primer dibandingkan dengan yang mempunyai status gizi normal. Penelitian tersebut didukung oleh penelitian Sharma *et al.* (2013) yang mengatakan bahwa beberapa gaya hidup yang sering mempengaruhi adalah nutrisi yang berhubungan dengan berat badan dan obesitas. Jungheim *et al.* (2013) juga mengatakan bahwa obesitas

adalah masalah yang sering menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi wanita. Hal itu mengakibatkan terjadinya anovulasi, menstruasi yang tidak teratur, subfertilitas, keguguran dan bahaya pada kehamilan.

Selain diet tinggi lemak, terdapat salah satu zat yang semakin sering digunakan oleh masyarakat sebagai campuran di dalam makanan yaitu *Monosodium Glutamate* (MSG). MSG merupakan salah satu zat aditif makanan yang paling sering digunakan di dunia. Efek toksik MSG terhadap sistem reproduksi banyak dihubungkan dalam beberapa penelitian. Pada penelitian Abbasi *et al.* (2016), pemberian MSG pada tikus betina (*Sprague dawley*) mengakibatkan peningkatan berat ovarium, degenerasi sel granulosa dan penurunan jumlah folikel primer. Menurut Umami (2014), pada penelitiannya, pemberian MSG 0,7mg/gBB selama 42 hari per sonde pada tikus menunjukkan penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan penipisan pada lapisan otot polos tuba falopi. Penurunan jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi berhubungan dengan radang panggul yang dihubungkan dengan kejadian infertilitas wanita dan penipisan pada lapisan otot polos tuba falopi dapat menurunkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim (Umami *et al.*, 2014).

Efek toksik telah dibuktikan dengan beberapa penelitian pada hewan, tetapi kebanyakan metode pemberian dan dosis pada penelitian hewan tidak sama dengan konsumsi MSG pada manusia (Husarova dan Ostatnikova, 2013). Pada kenyataannya penggunaan diet tinggi lemak yang dapat menyebabkan obesitas sering kali dicampurkan dengan MSG sebagai penyedap rasa. Kombinasi diet tinggi lemak dan MSG memungkinkan peningkatan kejadian gangguan pada sistem

reproduksi wanita salah satunya tuba falopi. Hal ini membuat peneliti ingin menguji efek dari penggunaan kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dengan dosis lebih rendah terhadap jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi dan ketebalan otot polos tuba falopi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap sel epitel sekretorik dan otot polos tuba falopi pada tikus wistar *Rattus norvegicus* ?

## 1.3 Tujuan

### 1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap sel epitel sekretorik dan otot polos tuba falopi pada tikus wistar *Rattus norvegicus*

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap jumlah sel epitel sekretorik.
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap ketebalan otot polos tuba falopi.

## **1.4 Manfaat**

### **1.4.1 Manfaat akademis**

1. Menambah pengetahuan dalam bidang penelitian mengenai efek samping yang dapat ditimbulkan akibat pemberian diet tinggi lemak dan MSG terhadap sel epitel sekretorik dan otot polos tuba falopi.
2. Dapat digunakan sebagai literatur penunjang untuk penelitian-penelitian berikutnya mengenai efek samping pemberian diet tinggi lemak dan MSG terhadap sel epitel sekretorik dan otot polos tuba falopi.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Hasil penelitian dapat dijadikan sumber dalam meningkatkan kewaspadaan penggunaan MSG dalam konsumsi makanan yang mengandung diet tinggi lemak di masyarakat sehingga dapat mencegah efek toksik campuran MSG dan diet tinggi lemak terhadap sistem reproduksi wanita.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Monosodium Glutamat

*Monosodium Glutamate* (MSG) merupakan salah satu zat aditif yang paling sering digunakan sebagai penambah rasa makanan. Komponen utama dari MSG adalah asam amino yang disebut glutamat. Glutamat secara alami ditemukan pada makanan yang mengandung protein seperti pada daging dan susu. Glutamat yang dapat digunakan sebagai penambah rasa hanya glutamat bebas yang terdapat pada garam yang terbentuk dari sodium atau potassium (U.S. Department of Health and Human Service, 1995).

Penggunaan MSG atau produk yang mengandung MSG di Indonesia telah menjadi kebiasaan dalam pembuatan makanan. Survey campuran bahan makanan yang dilakukan oleh Andarwulan *et al.* (2011) mengungkapkan bahwa kecap, MSG dan campuran lain yang mengandung glutamat bebas digunakan hampir 70% pada rumah yang berada di Bogor dan Jakarta, glutamat bebas tertinggi ditemukan pada MSG yaitu dengan kandungan 733,29mg/g. Survei ini juga mengungkapkan konsumsi glutamat bebas dari campuran bahan makanan di bogor (847,04/mg/cap/hari) lebih tinggi dibandingkan di Jakarta (615,87 mg/cap/hari

##### 2.1.1 Efek Monosodium Glutamat

Mengonsumsi MSG yang berlebihan dapat memicu beberapa penyakit kronik seperti diabetes mellitus tipe II, hipertensi, penyakit kardiovaskular, dislipidemia, kanker, dan *Chinese restaurant syndrome* (George *et al.*, 2015). Hal

ini didukung oleh Collison *et al.* (2010) yang menyebutkan bahwa konsumsi MSG dapat menginduksi dislipidemia dan resistensi insulin. Monosodium glutamat meningkatkan beberapa ekspresi gen yang dapat melibatkan diferensiasi adiposa, diferensiasi adiposa dapat mengakibatkan gangguan fungsi hati yaitu penurunan level transaminase dan sintesis empedu. Pada penelitian Kengni *et al.* (2015), Induksi MSG pada tikus dapat meningkatkan kolesterol total, serum trigliserida dan LDL (*low density lipoprotein*) dalam darah tetapi berat badan lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak diberi perlakuan. Pada penelitian yang dilakukan oleh George *et al.* (2015), MSG yang diberikan secara oral 0,8g/kgBB meningkatkan level dari kolesterol total, trigliserida, LDL dan VLDL (*very low density lipoprotein*).

Paul *et al.* (2012) menemukan penurunan aktifitas *superoxide dismutase*, katalase, *glutathione-S-transferase* dan *glutathione* (GSH) pada ginjal setelah pemberian MSG. Penelitian tersebut juga melaporkan bahwa penanda peroksidasi lemak seperti *malondialdehyde* (MDA) dan *conjugated dienes* pada jaringan ginjal meningkat dengan perlakuan MSG. Hal ini memungkinkan MSG menyebabkan produksi dari radikal bebas dan menurunnya antioksidan endogen.

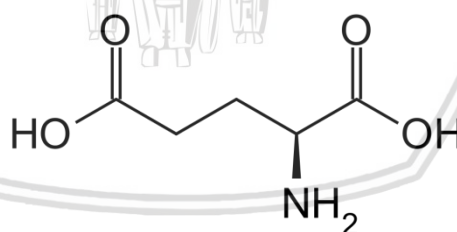
Pemberian MSG secara umum mempengaruhi mekanisme hipotalamus sehingga GnRH turun begitu juga FSH dan LH, yang berakibat juga pada keseimbangan estrogen dan progesteron (Muchsin dalam Umami *et al.*, 2014). Monosodium glutamat menyebabkan terjadi disfungsi neuroendokrin pada tikus. Disfungsi neuroendokrin tersebut berhubungan dengan hilangnya reseptor estrogen terutama di hipotalamus, paling banyak ditemukan pada bagian

*arcuata-median eminence*. Kelainan ini memungkinkan terjadinya gangguan pada sistem reproduksi pada tikus yang diberi MSG (Eweka, *et al.*, 2011).

Penggunaan MSG dapat menyebabkan oksidatif stres pada hati dan menjadi perubahan patologis pada ovarium dan tuba falopi (Husarova, 2013). Perubahan patologis khususnya pada tuba telah dibuktikan pada beberapa penelitian seperti pada penelitian Eweka *et al.* (2010), pemberian MSG 0,08 mg/kg MSG yang dicampur dengan pakan terbukti terjadi hipertrofi selular dari epitel kolumnar, distorsi dari membran dasar yang memisahkan endosalpink dari miosalpink dan lisis pembuluh darah. Efek lain MSG terhadap tuba dibuktikan oleh Umami *et al.* (2014) yaitu pemberian MSG 0,7 mg/gBB menunjukan penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan penipisan sel otot polos tuba falopi.

## 2.2 Glutamat

Glutamat merupakan salah satu asam amino non esensial yang ada di dalam tubuh yang disintesis dari  $\alpha$ -ketoglutarat (Murray *et al.*, 2009).



**Gambar 2.1 Struktur Glutamat (Sumardjo, 2008)**

Glutamat menjalankan beberapa fungsi penting dalam proses metabolisme di dalam tubuh, antara lain:

- 1) Substansi untuk sintesis protein

Glutamat sebagai salah satu asam amino yang banyak terdapat di dalam sumber alami. Diperkirakan 10-40% glutamat terkandung di dalam protein. L-

*glutamic acid* merupakan bahan yang penting untuk sintesa protein. Asam glutamat memiliki karakter fisik dan kimia yang dapat menjadi struktur sekunder dari protein yang disebut rantai  $\alpha$  (Walls, *et al.*, 2015).

## 2) Pasangan transaminasi dengan $\alpha$ -ketoglutarat

L-glutamat disintesa dari ammonia dan  $\alpha$ -ketoglutarat dalam suatu reaksi yang dikatalisir oleh *L-glutamate dehydrogenase* (siklus asam sitrat). Reaksi ini penting dalam biosintesa seluruh asam amino. Glutamat yang diserap ditransaminasikan dengan piruvat dalam bentuk alanin. Alanin dari hasil transaminasi dari piruvat, oleh asam amino dekarboksilat menghasilkan  $\alpha$ -ketoglutarat atau oksaloasetat. Glutamat yang lolos dari metabolisme mukosa, dibawa melalui vena portal ke hati. Sebagian glutamat dikonversikan oleh usus dan hati dalam bentuk glukosa dan laktat, kemudian dialirkan ke darah perifer (Walls, *et al.*, 2015).

## 3) Prekursor glutamin

Glutamin dibentuk dari glutamat oleh glutamin sintetase. Ini juga merupakan reaksi yang sangat penting di dalam metabolisme asam amino. Amonia akan dikonversikan menjadi glutamin sebelum masuk ke dalam sirkulasi. Glutamat dan glutamin merupakan mata rantai karbon dan nitrogen di dalam proses metabolisme karbohidrat dan protein (Walls, *et al.*, 2015).

## 4) Neurotransmitter

Glutamat adalah transmitter mayor di otak, berfungsi sebagai mediator untuk menyampaikan transmisi post sinaptik. Selain itu glutamat juga berfungsi sebagai prekursor dari neurotransmitter *Gamma Ammino Butiric Acid* (GABA) (Walls, *et al.*, 2015). Kelebihan glutamat dapat mematikan neuron otak

(eksitotoksisitas) dan terbukti sel otak yang mengalami iskemia kadar glutamatnya tinggi.

Neurotransmitter menampilkan efek toksik dengan eksitasi neuron melalui perangsangan reseptor glutamat yang terdiri dari berbagai sub tipe, dan selanjutnya berjalan sebagai proses *glutamate cascade*. Proses *glutamate cascade* dimulai dengan pelepasan neurotransmitter glutamat (suatu stimulus eksitatorik) yang berlebihan dari ujung ujung terminal neuron yang mengalami iskemia ke dalam celah antar sel (kebanyakan neuron neuron otak mengandung neurotransmitter ini). Sekresi glutamat terjadi melalui depolarisasi membran sel bagian luar. Di dalam keadaan normal, pompa-pompa ion akan mengatur keluar masuknya ion pada sel sekaligus mengeluarkan kelebihan glutamat, namun pada keadaan sel yang iskemia, pompa menjadi rusak atau kurang efektif. Sebagai konsekuensi dari kelebihan glutamat ini, neurotransmitter tersebut akan diikat oleh reseptor-reseptor molekul glutamat yang berada di neuron sebelahnya. Pengikatan lanjutan ini akan berakibat terbukanya kanal ion sehingga menginduksi gerakan ion-ion kalsium yang abnormal ke dalam sel dan berlanjut sebagai reaksi penghancuran sel-sel tersebut. Dengan pengeluaran kalsium dari rongga ekstraseluler dapat mengurangi kematian sel akibat *glutamate cascade*, sehingga diduga masuknya kalsium ke dalam sel merupakan mediator dari efek destruktif glutamat. Reseptor yang dikenal dengan nama reseptor *N-Methyl-D-Aspartate* (NMDA) adalah salah satu dari reseptor glutamat yang mampu membuka kanal sehingga banyak ion kalsium dapat masuk menembus membran sel (Satyanegara *et al.*, 2010).

## 2.3 Diet Tinggi Lemak

Lemak merupakan lipid sederhana yang terdiri dari ester asam lemak dengan gliserol. *High fat diet* (HFD) atau diet tinggi lemak merupakan salah satu penyebab utama yang dapat mengawali penumpukan massa lemak yang berlebihan, yang akan mengakibatkan sindrom metabolik seperti dislipidemia. *High fat diet* (HFD) ini dibuat untuk menghasilkan keadaan dislipidemia pada hewan coba (Shah *et al.*, 2011).

Lemak (*fat*) yang diserap dari makanan dan lipid yang disintesis oleh hati dan jaringan adiposa harus diangkut ke berbagai jaringan dan organ untuk digunakan dan disimpan karena lipid tidak larut di dalam air, maka masalah cara pengangkutan lipid dalam plasma darah yang berbahan dasar air dipecahkan dengan cara menggabungkan lipid nonpolar (triasilgliserol dan ester kolestril) dengan lipid amfipatik (fosfolipid dan kolesterol) serta protein untuk menghasilkan lipoprotein yang dapat bercampur dengan air. Dalam lipoprotein terdapat empat kelas utama lipid yaitu triasilgliserol, fosfolipid, kolesterol, dan ester kolesteril. Kolesterol merupakan prekursor hormon seks (Murray *et al.*, 2009).

Mengonsumsi diet tinggi lemak dapat menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas plasma yang dapat menyebabkan perlemakan hati (Murray *et al.*, 2009). Diet tinggi lemak juga dapat meningkatkan metabolisme oksidasi asam lemak, sehingga meningkatkan produksi oksigen yang reaktif atau radikal bebas (Marks *et al.*, 2000).

### 2.3.1 Efek diet tinggi lemak

Konsumsi diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar trigliserida (TG), *low density lipoprotein* (LDL), dan penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL) tikus putih strain wistar jantan. Pada durasi 8 minggu pemberian HFD



secara signifikan meningkatkan kadar TG, LDL, dan penurunan kadar HDL tikus putih strain wistar jantan (Heriansyah, 2013). Peningkatan Trigliserida dan LDL dapat mempengaruhi kadar kolesterol. Kolesterol adalah lipid amfipatik dan merupakan komponen struktural esensial pada membran dan lapisan luar lipoprotein plasma. Senyawa ini merupakan prekursor semua steroid lain di tubuh, termasuk kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D. Perubahan kadar kolesterol dapat menyebabkan gangguan hormon karena semua hormon steroid mamalia dibentuk dari kolesterol via pregnenolon melalui serangkaian reaksi yang terjadi di mitokondria atau retikulum endoplasma sel pembentuk (Murray *et al.*, 2009).

Diet tinggi lemak juga dapat meningkatkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang berpotensi merugikan karena prekursor molekular untuk proses inisiasi umumnya adalah produk hidroperoksida ROOH (Murray *et al.*, 2009).

Pengaruh diet tinggi lemak yang dapat menyebabkan gangguan hormonal sangat sering berdampak pada sistem reproduksi baik pria dan wanita. Pada wanita, diet tinggi lemak menjadi masalah yang sering menimbulkan gangguan pada reproduksi wanita. Hal ini berhubungan dengan menstruasi yang irregular, subfertilitas, anovulasi dan dapat menyebabkan keguguran (Jungheim *et al.*, 2013).

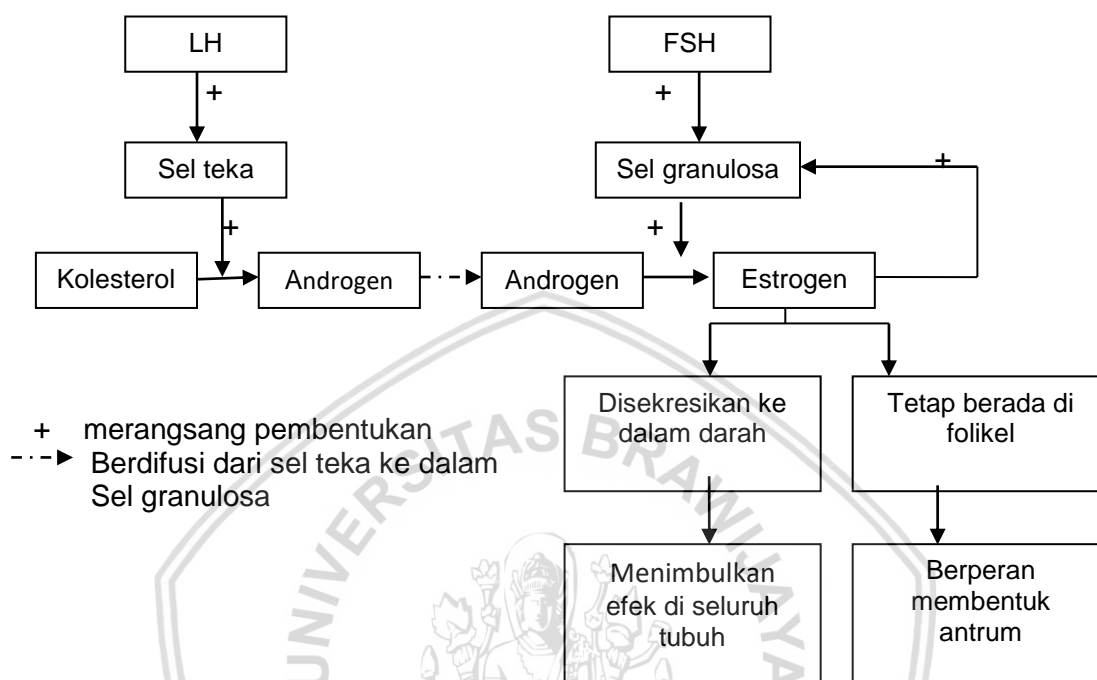
Pada sistem reproduksi pria, konsumsi diet tinggi lemak dapat menurunkan jumlah dan motilitas *spermatozoa*. Berdasarkan penelitian Jasda *et al.* (2014) rerata jumlah *spermatozoa* pada tikus yang diberi diet tinggi lemak sebesar 375 jt/mL lebih rendah jika dibandingkan dengan tikus yang diberi diet

normal yaitu 450 jt/mL, sedangkan untuk rerata persentase motilitas *spermatozoa* pada tikus yang diberi diet tinggi lemak sebesar 30 persen atau lebih rendah jika dibandingkan dengan tikus yang diberi diet normal yaitu 42 persen.

## 2.4 Siklus Reproduksi Wanita

Fisiologi reproduksi wanita ditandai oleh siklus kompleks. Pada setiap siklus, saluran reproduksi wanita dipersiapkan untuk fertilisasi dan implantasi ovum yang dibebaskan dari ovarium saat ovulasi. Pelepasan ovum bersifat intermiten dan sekresi hormon-hormon seks wanita memperlihatkan pergeseran siklik yang lebar.

Siklus ovarium diatur oleh interaksi hormon yang kompleks. Selama fase folikular, baik sel granulosa maupun sel teka ikut serta dalam produksi estrogen. Produksi estrogen diawali dengan kolesterol dengan sejumlah langkah berurutan, dengan yang terakhir berupa konversi androgen menjadi estrogen. Sel-sel teka cepat menghasilkan androgen tetapi kurang kemampuannya untuk mengubah androgen menjadi estrogen. Sel granulosa, sebaliknya, mengandung enzim *aromatase* sehingga dapat dengan mudah mengubah androgen menjadi estrogen, tetapi sel ini tidak membentuk androgen. LH bekerja pada sel teka untuk merangsang produksi androgen, sementara FSH bekerja pada sel granulosa untuk meningkatkan konversi androgen teka menjadi estrogen. Karena kadar basal FSH yang rendah sudah memadai untuk mendorong konversi akhir menjadi estrogen, maka laju sekresi estrogen oleh folikel terutama bergantung pada kadar LH dalam darah yang terus meningkat selama fase folikular. Selain itu, seiring dengan semakin tumbuhnya folikel, lebih banyak estrogen diproduksi karena sel folikel penghasil estrogen bertambah (Gambar 2.2) (Sherwood, 2011).



**Gambar 2.2 Produksi estrogen oleh folikel ovarium (Sherwood, 2011)**

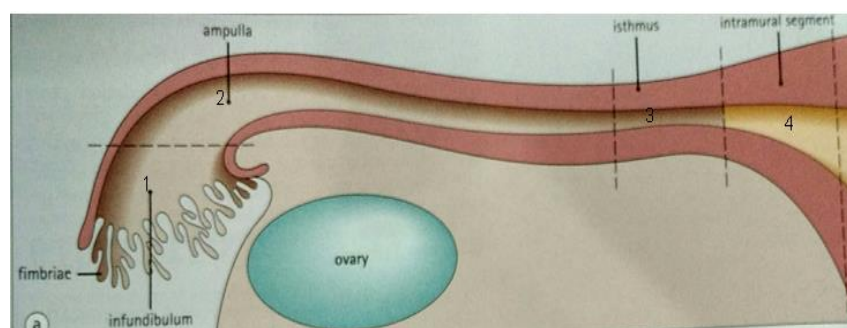
Peningkatan sedang kadar estrogen menghambat sekresi FSH yang menurun selama bagian terakhir fase folikular dan menekan secara tak sempurna sekresi tonik LH yang terus meningkat sepanjang fase folikular. Ketika produksi estrogen folikel mencapai puncaknya, kadar estrogen yang tinggi ini memicu lonjakan sekresi LH pada pertengahan siklus. Lonjakan LH ini menyebabkan ovulasi folikel matang. Sekresi estrogen akan merosot ketika folikel mengalami kematian saat ovulasi.

Sel-sel folikel lama berubah menjadi korpus luteum yang mengeluarkan progesteron serta estrogen. Selama fase luteal paruh terakhir siklus ovarium, progesteron menghambat dengan kuat FSH dan LH yang terus menurun sepanjang fase luteal. Korpus luteum berdegenerasi dalam waktu sekitar dua

minggu jika ovum yang dibebaskan tidak dibuahi dan terimplentasi di uterus. Kadar progesteron dan estrogen turun tajam ketika korpus luteum berdegenerasi, sehingga pengaruh inhibitorik pada FSH dan LH lenyap. Sewaktu kedua hormon hipofisis ini mulai kembali meningkat akibat tidak adanya inhibisi, perkembangan kelompok baru folikel-folikel kembali dimulai seiring dengan masuknya fase folikular (Sherwood, 2011).

## 2.5 Tuba Falopi

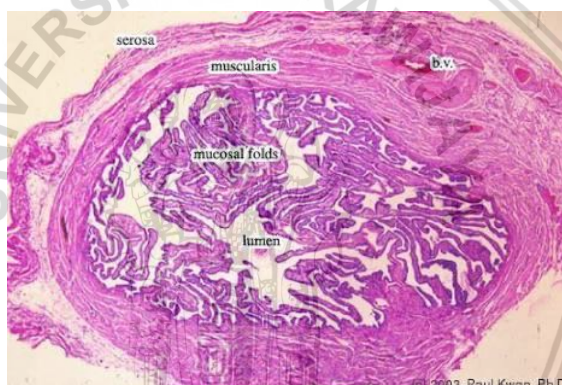
Tuba falopi ialah saluran telur yang berasal dari duktus mulleri. Rata – rata panjang tuba 11-14 cm. Bagian tuba yang berada di dinding uterus dinamakan pars interstisialis, lateral dari itu kearah ujung tuba (3-6 cm) terdapat pars ismika yang menyempit (diameter 2-3 mm), dan lebih kearah distal lagi disebut pars ampularis yang melebar( diameter 4-10 mm), Tuba mempunyai ujung terbuka menyerupai anemone yang disebut infundibulum dan fimbria yang merupakan tangan – tangannya (Gambar 2.3) (Anwar *et al.*, 2011). Bagian luar tuba diliputi oleh peritoneum viseral,yang merupakan bagian dari ligamentum latum. Pada tuba terdapat empat bagian, setiap bagian berbeda secara histologi khususnya pada ukuran otot dan epitelium dan derajat kerumitan pada epitelium.



**Gambar 2.3 Tuba falopi (Lowe dan Anderson, 2014)**

Tuba falopi dibagi menjadi 4 bagian yaitu infundibulum (1), ampulla (2), isthmus (3), dan segmen intramural (4)

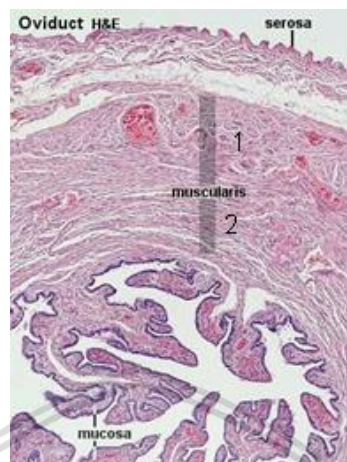
Tuba falopi memiliki tiga lapisan yaitu mukosa, muskularis, dan serosa (Gambar 2.4). Lapisan serosa merupakan lapisan terluar atau terusan dari selaput peritoneum yang terdiri dari jaringan ikat (Almeida, 2001). Pada lapisan mukosa terdapat dua jenis sel yang berbeda yaitu sel epitel silindris bersilia dan sel sekretorik. Sel silia merupakan sel yang aktif bergetar menjelang oosit lewat, sel sekretorik mengandung banyak butir sekret/cairan didalamnya, diduga menghasilkan sekret yang bersifat nutritif bagi embrio. Lapisan muskularis merupakan lapisan otot tuba falopi (El-Mowafi, 2012).



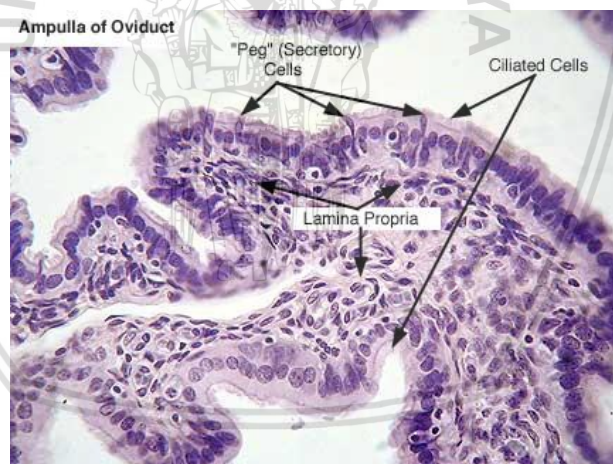
**Gambar 2.4 Tuba falopi. pewarnaan hematoksin dengan perbesaran 5x (Kwan, 2003)**

Otot polos tuba tersusun dalam lapisan sirkuler dalam dan longitudinal luar (Gambar 2.5). Pada bagian distal, kedua lapisan tersebut kurang jelas dan di dekat ujung fimbria digantikan oleh jalinan anyaman serat otot. Otot tuba mengalami kontraksi ritmis secara konstan yang jumlahnya bervariasi sesuai dengan perubahan hormonal siklus ovarium. Frekuensi dan intensitas kontraksi terbesar dicapai selama transport ovarium. Sel bersilia sangat banyak di ujung fimbria, di tempat lain ditemukan di bagian kecil tertentu.





**Gambar 2.5** Tuba falopi: lapisan otot, lapisan pertama adalah lapisan otot longitudinal luar dan lapisan kedua adalah lapisan otot sirkular dalam (Slomianka, 2009)

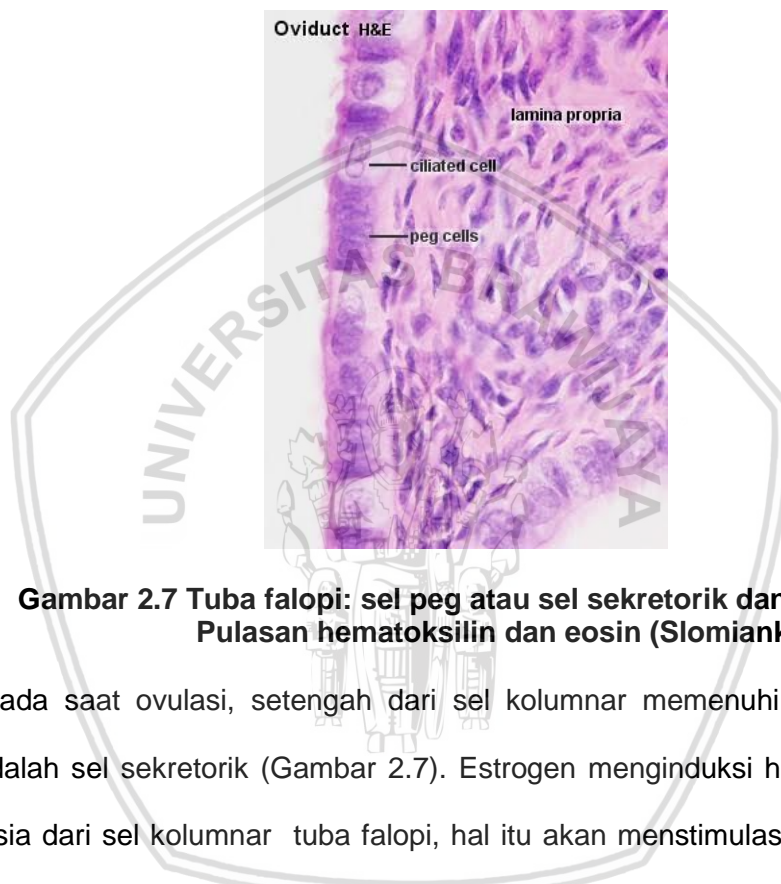


**Gambar 2.6** Ampula, terdapat sel silia dan sel sekretorik (*University of New England, 2005*).

Morfologi dari sel kolumnar di kontrol oleh hormon wanita. selama fase folikuler, meningkatnya level estrogen menstimulasi diferensiasi dari sel kolumnar menjadi sel sekretorik dan silia. Sel silia berjumlah berbeda pada bagian dekat ovarium dimana sel silia lebih banyak pada bagian ini (sekitar 60-80%) (Gambar 2.6), tetapi pada bagian yang dekat dengan uterus, sel silia lebih sedikit (sekitar



25%) dan pada bagian ini terdapat lebih banyak sel sekretorik. Sel silia berbentuk kolumnar dan lebih banyak dibanding sel sekretorik. Sel sekretorik memiliki inti yang lebih gelap dan lebih dekat ke lumen dibanding sel silia. Sel sekretorik yang juga disebut sel peg berada terhimpit diantara sel silia (Tufts University, 2005).



**Gambar 2.7 Tuba falopi: sel peg atau sel sekretorik dan sel silia. Pulasan hematoksilin dan eosin (Slomianka, 2009).**

Pada saat ovulasi, setengah dari sel kolumnar memenuhi lumen tuba falopi adalah sel sekretorik (Gambar 2.7). Estrogen menginduksi hipertropi dan hiperplasia dari sel kolumnar tuba falopi, hal itu akan menstimulasi diferensiasi dari sel sekretorik, perkembangan dari organela sekretorik dan siliogenesis. Sel sekretorik yang berisi cairan nutritif banyak mengandung mukoproteins, elektrolit dan enzim yang diduga berasal dari transudasi selektif darah, dan sekresi aktif dari lapisan epitel (El.Mowafi., 2012).

Estrogen mempengaruhi kontraksi otot tuba falopi, pada saat transport sperma ke tuba uterin, kadar estrogen yang tinggi tepat sebelum ovulasi akan meningkatkan kontraksi miometrium dan tuba uterin yang akan mempermudah transpor sperma (Shier *et al.*, 2007).

## 2.6 Stres oksidatif

Selama berjalannya metabolisme, terjadi pembentukan beberapa oksidan kuat, baik di sel darah maupun di kebanyakan sel lain tubuh. Oksidan ini mencakup superoksida ( $O_2^-$ ), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal peroksil (ROO), dan radikal hidroksil (OH). Berbagai oksidan ini disebut sebagai spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS). Radikal bebas adalah atom atau kelompok atom yang memiliki elektron tak berpasangan. OH merupakan molekul khusus yang sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid, dan molekul lain untuk mengubah struktur molekul-molekul tersebut dan menyebabkan kerusakan jaringan (Murray *et al.*, 2009)

Senyawa dan reaksi kimia yang dapat menghasilkan spesies oksigen berpotensi toksik dapat disebut sebagai pro-oksidan. Di pihak lain, senyawa dan reaksi yang menyingkirkan (membersihkan) spesies-spesies ini, menekan pembentukannya, atau melawan efeknya disebut antioksidan yang mencakup berbagai senyawa, seperti NADPH, GSH, asam askorbat, dan vitamin E. pada sel normal, terdapat keseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan. Namun, keseimbangan ini dapat bergeser kearah pro-oksidan jika pembentukan spesies oksigen meningkat dengan pesat atau jika kadar antioksidan berkurang. Keadaan ini disebut “stres oksidatif” dan dapat menyebabkan kerusakan sel yang serius jika stres berlangsung secara masif atau berkepanjangan (Murray *et al.*, 2009).

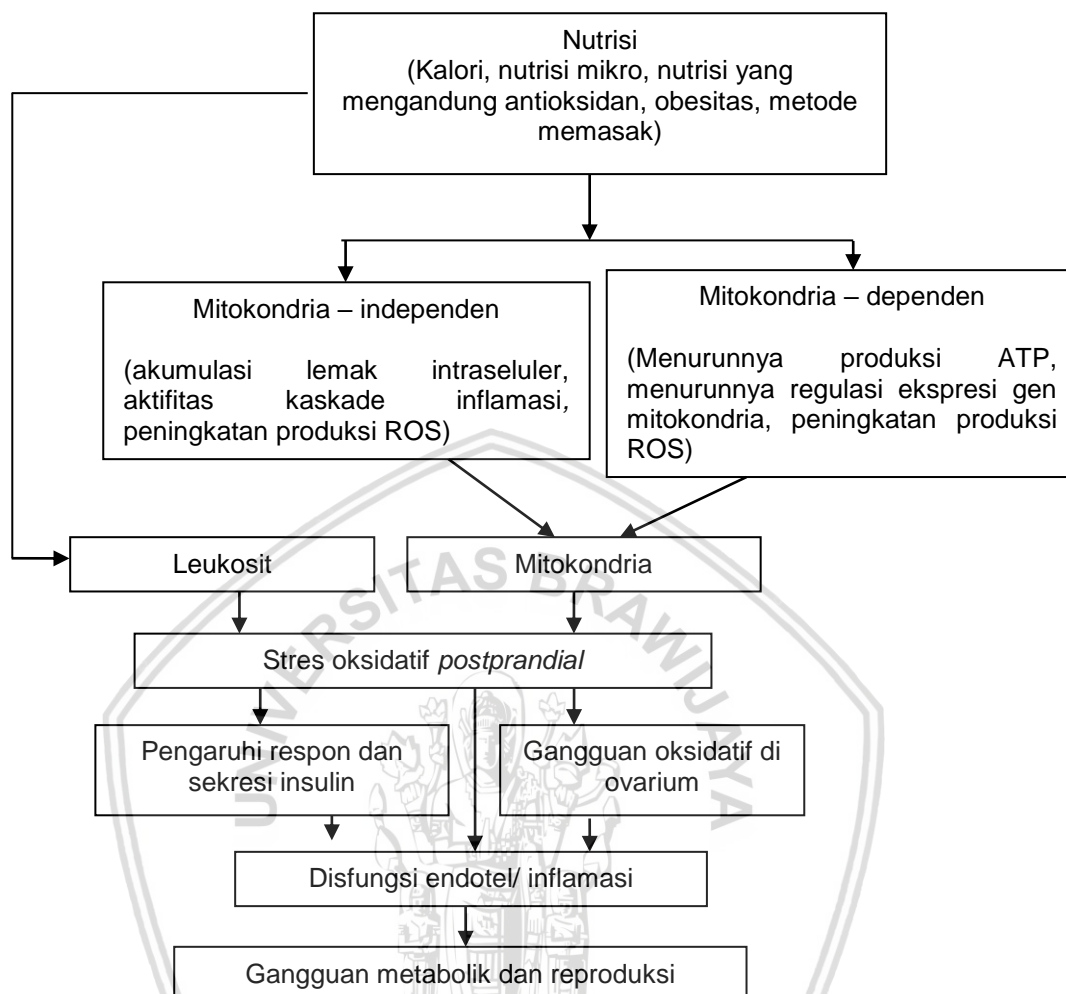
Stress oksidatif juga dapat terjadi jika terjadi penurunan sekresi estrogen dalam tubuh (Nazrun, *et al.*, 2008). Hal ini terjadi karena estrogen berperan sebagai *free radical scavenger* dan dapat menginduksi antioksidan enzimatik

endogen (Karelis, *et al.*, 2005). Radikal bebas yang tinggi menyebabkan peroksidasi lipid membran sel dan merusak organisasi membran sel. Peroksidasi lipid akan menghasilkan LDL, sehingga tidak dikenali oleh reseptor apoprotein, namun dikenali oleh *reseptor scavenger* atau oleh oksidasi LDL reseptor yang bersifat sitotoksik. *Low density lipoprotein* yang teroksidasi akan merangsang produksi sel inflamasi, stres metabolik pada endotel juga akan menghasilkan produksi superoksida yang berlebihan pada sel endotel dan sel otot polos (Bertolin, *et al.*, 2011).

## 2.7 Efek Nutrisi Terhadap Stres Oksidatif

Nutrisi dapat menghasilkan stres oksidatif dan memicu berbagai kejadian molekuler yang dapat mengganggu oksidatif dan keseimbangan hormonal. Penanganan nutrisi meningkatkan respons inflamasi dan oksidatif pada tingkat sel dalam keadaan postprandial, mengubah keadaan metabolik jaringan. Perubahan pada metabolik yang tidak menguntungkan terdapat dalam organ metabolik utama termasuk jaringan adiposa, otot rangka, hati dan pankreas, disfungsi endotel, deregulasi mitokondria dan mengganggu respons dan sekresi insulin (Thompson *et al.*, 2012).

Hal ini juga terjadi pada sistem reproduksi, stres oksidatif yang diinduksi nutrisi berpotensi mengganggu keseimbangan oksidatif yang bekerja untuk menjamin fungsi reproduksi normal. Berdasarkan hal tersebut, nutrisi dan stres oksidatif postprandial yang menyertainya, dalam konteks hormon wanita dapat berpotensi membahayakan fungsi metabolik dan reproduksi normal pada wanita dan dapat bertindak sebagai mediator aktif berbagai gangguan metabolisme dan reproduksi (Kandarakis *et al.*, 2017).



**Gambar 2.8 Pengaruh nutrisi terhadap stres oksidatif (Kandarakis et al., 2017)**

Jumlah asupan kalori merupakan faktor penentu yang mempengaruhi intensitas oksidatif postprandial. Jumlah makanan berkalori tinggi berlebih menyebabkan kenaikan abnormal glukosa darah, trigliserida dan asam lemak bebas dalam sirkulasi darah. Hal ini membuat konsentrasi glukosa dan FFA (*free fatty acids*) melebihi kadar total kapasitas mitokondria untuk fosforilasi oksidatif sehingga menyebabkan peningkatan transfer elektron tunggal ke oksigen molekul. Akibatnya, semakin banyak anion superoksida memasuki sirkulasi.

Selain dari mitokondria, generasi ROS oleh leukosit juga dipengaruhi oleh jumlah kalori, dimana pembatasan kalori menyebabkan penurunan yang baik pada generasi ROS oleh leukosit, peroksidasi lipid dan karbonilasi protein (Wallace *et al.*, 2010)

Konsumsi mikronutrien juga katalitik dalam amplitudo postprandial stres oksidatif. Karbohidrat dan konsumsi lipid membangkitkan respons oksidatif yang sama oleh leukosit. Pada konsumsi lipid, jenis lemak yang dikonsumsi mungkin memiliki peran dalam stres oksidatif, karena lemak jenuh sangat terkait dengan CVD (*cardiovascular disease*), sedangkan n-3 lemak tak jenuh ganda diketahui menyebabkan efek antiinflamasi (Kandarakis *et al.*, 2017).

Metode memasak juga bisa memperparah dampak pada metabolisme oksidatif secara postprandial. Makanan tinggi protein dan lemak yang dimasak sebentar di bawah suhu tinggi menyebabkan pembentukan diet AGEs (*advanced glycation end products*), diet AGEs menyebabkan postprandial dengan disfungsi endotelial akut. seperti yang digambarkan oleh penurunan yang signifikan dilatasi *flow-mediated* baik pada kesehatan dan penderita diabetes. Diet AGEs tampaknya memiliki dampak negatif pada wanita, wanita dapat mengalami gangguan reproduksi. Pada wanita dengan PCOS (*polycystic ovarian syndrome*), menunjukan bahwa diet rendah AGEs bersamaan dengan administrasi inhibitor lipase (orlistat) selama 6 bulan menyebabkan peningkatan profil hormonal wanita dan juga perubahan BMI (*body mass index*) (Kandarakis *et al.*, 2017).

## 2.8 Hewan Coba

### 2.8.1 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Penelitian dengan menggunakan tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) lebih banyak dilakukan oleh peneliti karena banyak yang menganggap aspek

perilaku dan fisiologis tikus lebih relevan dengan manusia dan lebih mudah diamati, mudah dipelihara dibandingkan dengan mencit. Terdapat beberapa galur tikus yang dapat digunakan untuk percobaan yaitu wistar albino, *Long-evans*, dan *Sprague dawley*, namun yang sering digunakan dalam penelitian adalah tikus wistar albino (Widiartini *et al.*, 2013).

Taksonomi tikus putih menurut Hedrich (2006), sebagai berikut:



Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Terdapat beberapa alasan tikus digunakan sebagai hewan coba karena memiliki sifat-sifat yaitu memiliki daya adaptasi yang baik, fungsi dan bentuk organnya serta proses biokimia dan biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan. Tikus dipilih sebagai hewan coba karena penanganan dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, sifat reproduksi menyerupai mamalia besar, lama kebuntingan singkat, angkakelahiran tinggi, siklus estrus pendek dan karakteristik tiap fase siklus jelas. Hewan ini sebagian besar digunakan untuk penelitian yang bertujuan ilmiah



seperti pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, dan embriologi (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

**Tabel 2,1 Parameter fisiologis reproduksi dan biologis tikus putih (Partodiharjo, 1992).**

Kriteria	Nilai
Fase 1 diestrus	60 jam
Fase 2 proestrus (awal)	60 jam
Fase 3 proestrus (akhir)	12 jam
Fase 4 estrus	10-20 jam
Fase 5 metaestrus	8 jam
Durasi total siklus	4-5 hari
Lama estrus	9-20 jam
Waktu ovulasi	8-11 jam sesudah estrus
Usia lepas sapih	21 hari
Usia pubertas	6-8 minggu
Berat dewasa jantan	300-400 gram
Berat dewasa betina	250-3000 gram
Konsumsi makanan per berat badan/hari	10 g/100g/hari
Konsumsi minum per berat badan/hari	10-12/100g/hari



**Gambar 2.9 Tikus *Rattus norvegicus* galur wistar (Akbar, 2010).**

### 2.8.2 Oviduk Tikus

Saluran ini terdapat sepasang dan merupakan penghubung antara ovarium dengan uterus. Oviduk terdiri dari bagian interstisialis, bagian ismika, bagian ampularis dan infundibulum yang berfimbria. Oviduk berfungsi pada saat ovulasi dimana ovum diarahkan ke dalam ujung oviduk yang berfimbria. Fungsi lain dari oviduk adalah kapasitasi sperma, fertilisasi, dan pembelahan embrio yang terjadi dibagian ampula. Pengangkutan sperma ke tempat fertilisasi dan pengangkutan ovum ke uterus diatur oleh kontraksi muskuler yang dikoordinir oleh hormon ovarial, estrogen dan progesterone (Akbar, 2010).

### 2.8.3 Siklus reproduksi

Masa hidup dari tikus putih ini adalah lebih kurang 4 tahun. Tikus mengalami dewasa kelamin pada umur 60-90 hari. Lama kebuntingannya sekitar 20-22 hari, sedangkan masa laktasinya adalah 21 hari. Dalam aktivitas reproduksinya, tikus mempunyai sifat poliestrus yaitu hewan yang memiliki siklus berahi lebih dari dua kali dalam setahun. Siklus estrus adalah siklus reproduksi yang terjadi pada mamalia. Pada tikus, durasi siklus estrusnya pendek, yaitu sekitar 4-5 hari. Fase tersebut akan berulang jika tidak ada kehamilan (Byers *et al.*, 2012).

Siklus berahi pertama timbul setelah 1-2 hari dari mulainya pembukaan vagina yang terjadi pada umur 28-29 hari (Malole dan Pramono, 1989). Untuk menentukan tahapan deteksi siklus berahi dapat dilakukan dengan teknik *papsmear* (ulas vagina), dengan melihat gambaran epitel vaginanya menggunakan mikroskop sehingga dapat dibedakan menjadi proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Partodiharjo 1992). Fase estrus dipengaruhi mekanisme hormonal yaitu hubungan antara hormon-hormon hipotalamus-hipofisis (GnRH,

LH, FSH), hormon-hormon ovarial (estradiol dan progesteron) dan hormon uterus (prostaglandin) (Akbar, 2010).

Siklus reproduksi tikus putih terdiri dari beberapa fase yaitu (Akbar, 2010):

a. Fase proestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf dibawah pengaruh FSH. Fase ini terjadi sekitar 1-2 hari. Sistem reproduksi memulai persiapan-persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Akibatnya sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat sehingga akan menimbulkan perubahan-perubahan fisiologis dan saraf, disertai kelakuan birahi pada hewan-hewan betina peliharaan. Saluran reproduksi termasuk mukosa vagina mulai mendapatkan vaskularisasi yang lebih intensif sehingga sel-sel epitel saluran reproduksi mulai berproliferasi. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak.

b. Fase estrus

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar.

c. Fase metestrus

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh corpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH oleh adenohypophysis sehingga menghambat pembentukan folikel de Graaf yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Selama metestrus uterus mengadakan persiapan-persiapan seperlunya untuk menerima dan memberi makan pada embrio. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit.

d. Fase diestrus

Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak-ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Endometrium lebih menebal dan kelenjar-kelenjar berhipertrofi. Serviks menutup dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. Selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen.

#### 2.8.4 Kebutuhan Pakan Tikus

Kebutuhan pakan bagi seekor tikus putih setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya, jika pakan tersebut merupakan bahan kering dan meningkat sampai 15% jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Tikus putih dewasa makan setiap hari antara 12-20 g/kg BB. Bahan dasar makanan tikus dapat bervariasi, dengan komposisi protein 20-25% (akan tetapi hanya 12% jika protein lengkapnya berisi asam amino esensial dengan

konsentrasi yang benar), lemak 5%, pati 45-50%, serat kasar kira-kira 5% dan abu 4-5% (Smith & Mangkoewidjojo 1988). Makanan tikus juga harus mengandung vitamin A (4000 IU/kg), vitamin D (1000 IU/kg), alfa-tokoferol (30 mg/kg), asam linoleat (3 g/kg), tiamin (4 mg/kg), riboflavin (3 mg/kg), pantotenat (8 mg/kg), vitamin B<sub>12</sub> (50 µg/kg), biotin (10 µg/kg), piridoksin (40-300 µg/kg) dan kolin (1000 mg/kg) (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Tikus putih membutuhkan nutrisi untuk hidup pokok sebesar 50 gram protein, 150 gram lemak dan 3,8 kkal ME/g energi, sedangkan untuk pertumbuhan sebesar 150 gram protein kasar, 50 gram lemak dan 4,1 kkal ME/g energi (NRC, 1995). Tikus dalam masa pertumbuhannya membutuhkan 12-13% protein dan 4-6% untuk hidup pokok. Kandungan lemak, energi, kalsium dan fosfor yang dibutuhkan tikus dalam masa pertumbuhannya secara berturut-turut adalah 5%; 3,8 kkal ME/g; 0,5% dan 0,4% (McNamara, 2006)

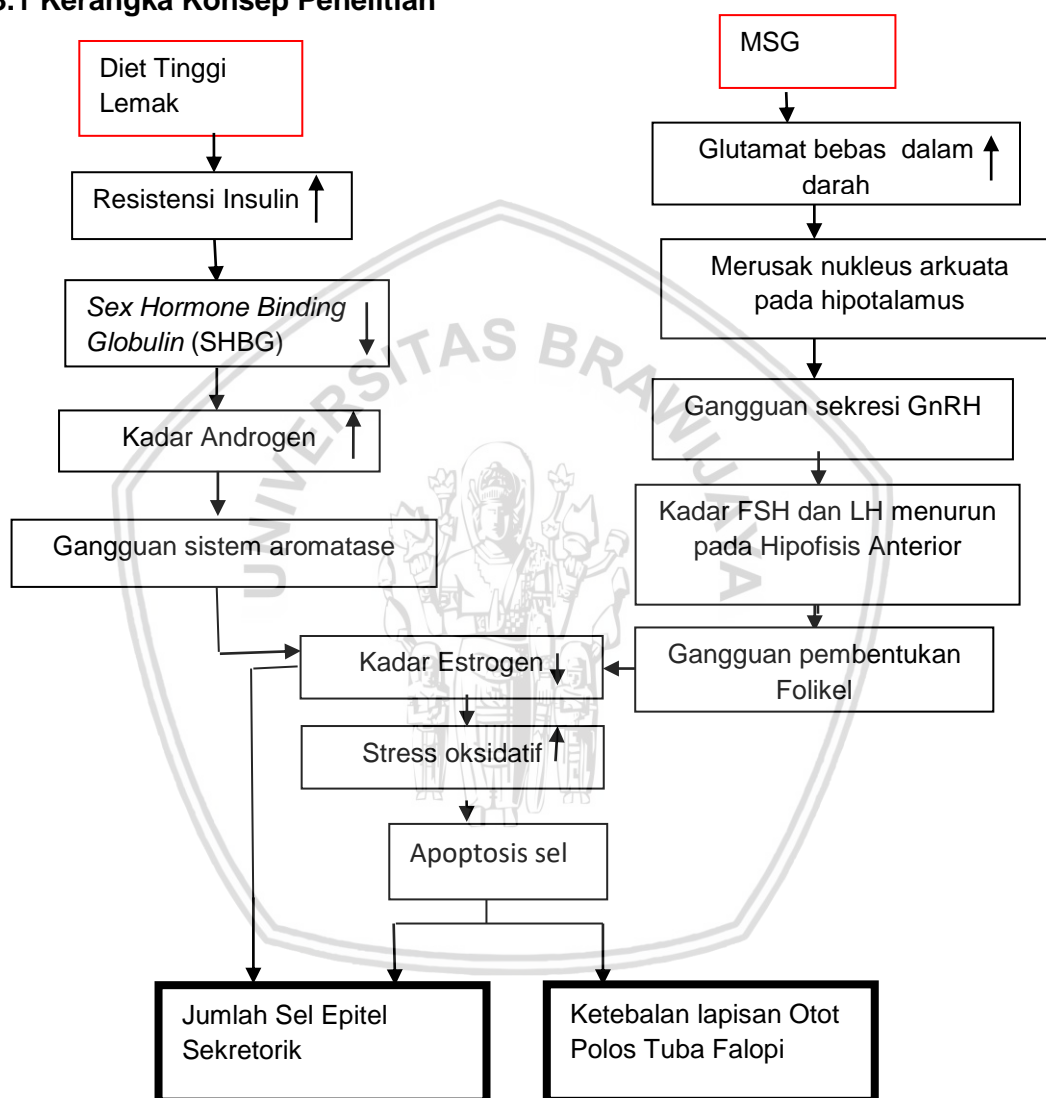




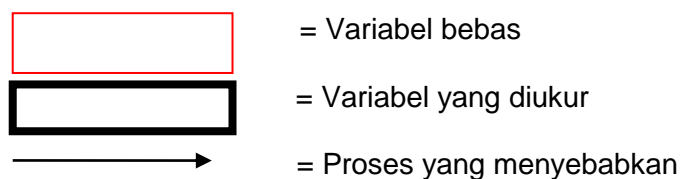
## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



#### Keterangan



Diet tinggi lemak dibuat untuk menghasilkan keadaan dislipidemia pada hewan coba (Shah *et al*, 2011). Akumulasi lemak pada *viscera* abdomen ini dapat menyebabkan peningkatan resistensi insulin. Hiperinsulinemia akan menekan kadar *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) sehingga kadar androgen bebas meningkat. Tingginya kadar androgen akan mengganggu sistem aromatase di dalam sel granulosa. Proses aromatisasi androgen menjadi estradiol akan terganggu, sehingga akan menyebabkan penurunan estrogen dan terjadi penumpukan androgen yang tidak teraromatisasi. Sehingga dapat terjadi perubahan hormon estrogen yang dapat menurunkan umpan balik estrogen terhadap hipotalamus (Speroff, 2011).

Konsumsi MSG yang berlebihan dapat meningkatkan glutamat bebas, hal tersebut menyebabkan terjadi disfungsi neuroendokrin pada tikus. Disfungsi neuroendokrin tersebut berhubungan dengan hilangnya reseptor estrogen terutama di hipotalamus, paling banyak ditemukan pada bagian *arcuata-median eminence*. Gangguan pada bagian *nucleus arkuata* di hipotalamus menyebabkan penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi FSH dan LH gonadotropin. LH bekerja pada sel teka untuk merangsang produksi androgen, sementara FSH bekerja pada sel granulosa untuk meningkatkan konversi androgen teka menjadi estrogen. Laju sekresi estrogen oleh folikel terutama bergantung pada kadar LH dalam darah yang terus meningkat selama fase folikular. Selain itu, seiring dengan semakin tumbuhnya folikel, lebih banyak estrogen diproduksi karena sel

folikel penghasil estrogen bertambah. Namun, pada keadaan penurunan FSH dan LH dapat terjadi gangguan pertumbuhan folikel sehingga folikel penghasil estrogen berkurang yang menyebabkan kadar estrogen menurun.

Penurunan kadar estrogen dapat menyebabkan meningkatnya stress oksidatif dikarenakan estrogen berperan sebagai *free radical scavenger* dan dapat menginduksi antioksidan enzimatik endogen (Karelis, *et al.*, 2005). Stres oksidatif yang berkepanjangan dapat menyebabkan terjadinya apoptosis sel. Hal ini diduga menyebabkan terjadinya penurunan ketebalan otot polos karena kerusakan sel otot polos dan penurunan sel epitel sekretorik karena terjadinya kerusakan sel. Selain itu gangguan pada estrogen secara langsung dapat menyebabkan menurunnya stimulasi diferensiasi sel kolumnar yang menyebabkan penurunan sel epitel sekretorik.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat menurunkan sel epitel sekretorik dan ketebalan lapisan otot polos tuba falopi *Rattus novvergicus* galur wistar.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan menggunakan jenis *randomized control group post test design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus betina jenis *Rattus novergicus* galur Wistar.

#### 4.2 Populasi dan Sampel

##### 4.2.1 Besar Sampel

Subjek penelitian adalah tikus betina jenis *Rattus novergicus* galur wistar. Perhitungan besarnya pengulangan pada sampel adalah sebagai berikut (Notoadmojo, 2010):

$p(n-1) \geq 15$  p : jumlah perlakuan, n : jumlah ulangan. Pada penelitian ini  $p = 6$  sehingga jumlah pengulangan adalah:  $6(n-1) \geq 15$

$n-1 \geq 15:6$  ,  $n \geq 4$  jadi dalam penelitian ini jumlah ulangan tiap perlakuan adalah empat

Setiap perlakuan diberikan penambahan 1 kali pengulangan sebagai cadangan sehingga total sampel yang dibutuhkan sejumlah 30 ekor tikus dengan rincian 5 ekor atau 5 pengulangan. Sebelum pengelompokan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari.

Penelitian ini membagi sampel dalam 6 kelompok perlakuan, yaitu:

1. Kelompok negatif (-): kelompok kontrol negatif (tikus wistar yang diberi diet normal)
2. Kelompok kontrol positif (+) 1: tikus yang diberi diet tinggi lemak
3. Kelompok kontrol positif (+) 2 tikus yang diberi MSG 0,7 mg/gBB dalam 1 ml aquades
4. Kelompok P1: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,05 mg/gBB dalam 1 ml aquades
5. Kelompok P2: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,2 mg/gBB dalam 1 ml aquades
6. Kelompok P3: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,35 mg/gBB dalam 1 ml aquades

Pilihan dosis mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Megawati (2005) yang memberikan MSG pada dosis 0,7 mg/gBB mempengaruhi histologi ovarium tikus yaitu penurunan sel granulosa ovarium. Peneliti melakukan penurunan dosis pada kelompok percobaan untuk mendekati dosis konsumsi pada manusia. Konsumsi MSG pada manusia berdasarkan penelitian Andarwulan *et al.* (2011) di bogor (847,04/mg/cap/hari) lebih tinggi dibandingkan di Jakarta (615,87 mg/cap/hari), maka rata rata konsumsi MSG dapat diperkirakan  $(847,04 + 615,87) / 2 = 731,455/\text{mg/cap/hari}$ . Jika dikonversikan ke dosis tikus (200 g) dengan nilai konversi manusia ke tikus adalah 0,018 (Laurence dan Bachrach, 1964 dalam Anggara, 2009) maka  $731,455 \times 0,018 = 13,17 \text{ mg}/200 \text{ gBB} = 0,06\text{mg/gBB}$ .

Maka untuk mendekati dosis konversi dari manusia ke tikus, peneliti menggunakan penurunan dosis pertama menjadi 0,05 mg/gBB dan pemberian



dosis kedua dan ketiga menggunakan interval 1,5 yaitu 0,2 mg/gBB dan 0,35 mg/gBB.

#### **4.2.2 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi**

##### **4.2.2.1 Kriteria inklusi**

1. Usia 6-8 minggu dengan berat badan 140-200 gram
2. Tikus dengan bulu rata berwarna putih, sehat, mata jernih, bergerak aktif, dan tingkah laku normal.
3. Jenis kelamin betina dan dengan siklus estrus 4-5 hari

##### **4.2.2.2 Kriteria eksklusi**

1. Tikus tampak sakit saat dilakukan perlakuan
2. Hewan coba mati pada saat proses penelitian berlangsung
3. Tikus yang tidak mencapai fase proestrus pada hari ke-61 perlakuan.

#### **4.3 Variabel Penelitian**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian MSG dan diet tinggi lemak. Dosis yang diberikan 0,05 mg/gBB, 0,2 mg/gBB, 0,35 mg/gBB.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah:

1. Jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi
2. Ketebalan otot polos tuba fallopi

Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkontrol dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Jenis tikus
- b. Umur tikus
- c. Jenis kelamin tikus

- d. Berat badan tikus
- e. Pemberian diet normal
- f. Kondisi lingkungan kandang

#### 4.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan selama 56 sampai 61 hari.

Perlakuan pada tikus dilakukan minimal 56 hari didasarkan penelitian Heriansyah (2013) pada tikus jenis *Rattus norvegicus* jantan yang diberikan diet tinggi lemak selama 56 hari secara signifikan menunjukkan peningkatan kadar TG, LDL, dan penurunan kadar HDL tikus. Jangka waktu penelitian dari 56 sampai 61 hari ditentukan berdasarkan rata-rata siklus estrus normal pada tikus yaitu 4-5 hari (Byers *et al.*, 2012).

#### 4.5 Bahan dan Alat Penelitian

##### 4.5.1 Alat Penelitian

**Tabel 4.1 Alat Penelitian**

Keperluan	Alat yang diperlukan
Alat pemeliharaan hewan coba	kandang, tutup kandang, botol air, rak tempat meletakkan kandang, sekam, alat semprot
Alat pembuat dan pemberian bahan makanan binatang coba	Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur, wadah minum, pengaduk, nampan, sonde lambung
Alat pemeriksaan histology	Cover glass, objek glass, pinset, oven/hotplate, mikroskop, automatic tissue tex prosesor
Alat Bedah hewan coba	Seperangkat alat bedah, seperangkat vacotainer dan kapas

## 4.5.2 Bahan Penelitian

### 4.5.2.1 Bahan Konsumsi Pakan Tikus

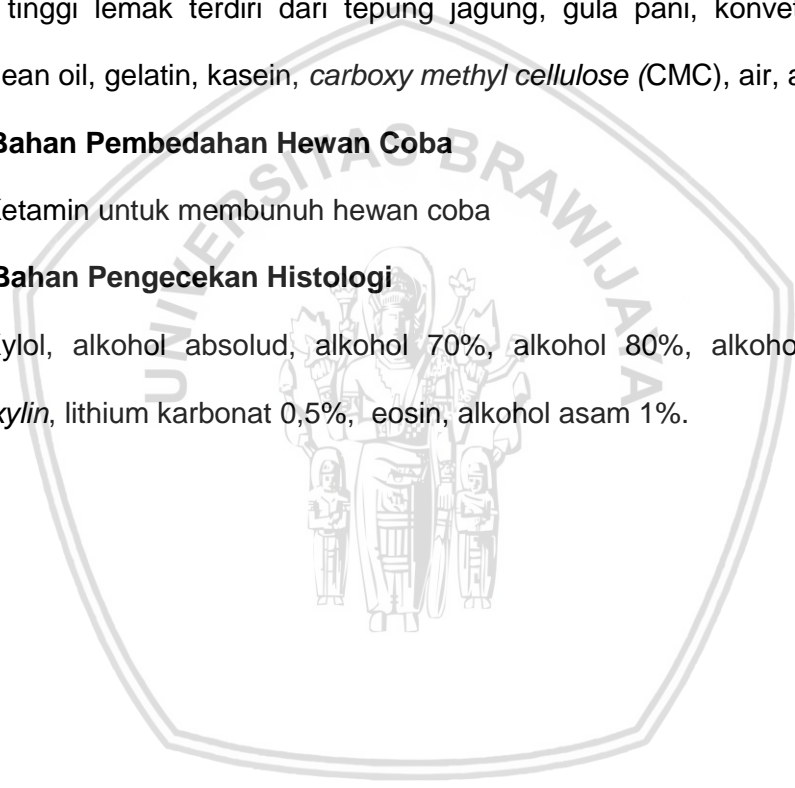
1. Pakan normal yang diberikan terdiri dari tepung jagung, gula pasir, soybean oil, gelatin, kasein, *carboxy methyl cellulose* (CMC), vitamin dan mineral, air.
2. MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99%
3. Diet tinggi lemak terdiri dari tepung jagung, gula pani, konvet, margarin, soybean oil, gelatin, kasein, *carboxy methyl cellulose* (CMC), air, asam colat

### 4.5.2.2 Bahan Pembedahan Hewan Coba

Ketamin untuk membunuh hewan coba

### 4.5.2.3 Bahan Pengecekan Histologi

Xylol, alkohol absolut, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, air, *hematoxylin*, lithium karbonat 0,5%, eosin, alkohol asam 1%.



#### 4.6 Definisi Operasional

**Tabel 4.2 Definisi operasional**

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Satuan
MSG	<i>L-glutamic acid monosodium salt hydrate</i> 99% yang dicampurkan dalam 1ml aquades	Neraca analitik	Rasio	mg/Gbb
Diet tinggi lemak	Komposisi makanan yang terdiri dari tepung jagung, gula pasir, konvet, margarin, soybean oil, gelatin, kasein, <i>carboxy methyl cellulose</i> (CMC), air, asam colat	Neraca analitik	Rasio	gram/hari
Jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi	sel yang terhimpit diantara sel silia, lebih dekat ke lumen dibanding sel silia dan berbentuk lebih lonjong. Perubahan jumlah pada sel epitel sekretorik dengan pemeriksaan histopatologis pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE) yang diamati dibawah mikroskop pada 4 kuadran, masing-masing kuadran diamati pada 3 lapang pandang sesuai dengan arah jarum jam	Mikroskop	Rasio	Sel
Ketebalan otot polos tuba falopi	Otot polos tuba tersusun dalam lapisan sirkuler dalam dan longitudinal luar dengan pemeriksaan histopatologis pewarnaan Hematoksilin dan Eosin yang diamati dibawah mikroskop pada 4 kuadran, masing-masing kuadran diamati pada 3 titik sesuai dengan arah jarum jam	Mikroskop	Rasio	µm

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Adaptasi

- a. Sebelum dilakukan perlakuan, hewan coba diadaptasi selama 7 hari dan diberi pakan standar (normal). Masing - masing tikus mendapatkan 30 gram. Pemberian pakan tikus dan minuman diberikan secara *ad libitum*.
- b. Setelah aklimatisasi, tikus dibiarkan selama 10 hari dengan pemberian pakan standar (normal) untuk mengetahui siklus estrus normal tikus.
- c. Hewan coba tikus betina sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok dengan metode rancangan acak lengkap dilakukan agar setiap hewan coba berpeluang sama untuk mendapat kesempatan sebagai sampel baik dalam kelompok penelitian maupun dalam kelompok kontrol. Kelompok pada tikus dibagi sebagai berikut:
  1. Kelompok negatif (-): kelompok kontrol negatif (tikus wistar yang diberi diet normal)
  2. Kelompok kontrol positif (+) 1: tikus yang diberi diet tinggi lemak
  3. Kelompok kontrol positif (+) 2 tikus yang diberi MSG 0,7 mg/gBB dalam 1 ml aquades
  4. Kelompok P1: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,05 mg/gBB dalam 1 ml aquades
  5. Kelompok P2: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,2 mg/gBB dalam 1 ml aquades
  6. Kelompok P3: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,35 mg/gBB dalam 1 ml aquades
- d. Sebelum perlakuan, berat badan tikus ditimbang, yaitu pada awal untuk mengambil rata rata berat badan tikus sehingga pemberian dosis dapat

disamakan pada semua tikus dan akhir masa adaptasi sehingga dapat dipantau berat badan tikus.

- e. Pada saat perlakuan, pemberian pakan pada kelompok kontrol negatif adalah pakan standar (normal).
- f. Pemberian diet tinggi lemak diberikan sebagai pakan tikus. Pemberian MSG dilakukan melalui sonde lambung sesuai dengan takaran pada tiap kelompok. Hal ini dilakukan untuk menjaga dosis pemberian MSG pada tikus
- g. Dilakukan penimbangan bahan makanan pada tikus tiap kelompok perlakuan setiap hari untuk mengetahui asupan makanan tikus. Dilakukan penimbangan bahan makanan pada tikus tiap kelompok perlakuan setiap hari untuk mengetahui asupan makanan tikus.
- h. Perlakuan tikus dilakukan secara bersamaan selama minimal 56 hari dan sekam diganti setiap pagi (2 hari/kali).
- i. Pada akhir penelitian setelah 56 hari, tikus yang berada pada fase proestrus dilakukan pembedahan, sedangkan tikus yang belum berada pada fase proestrus dilanjutkan perlakuannya sampai mencapai fase proestrus maksimal hari ke-61. Jika pada hari ke-61 tikus belum mencapai fase proestrus, maka tikus masuk dalam kriteria eksklusi.



#### 4.7.2 Pemberian Pakan Tikus Diet Normal

Pakan normal selama masa adaptasi dibuat dengan komposisi sebagai berikut

**Tabel 4.3 Bahan pembuatan diet normal (Handayani *et al.*, 2012)**

Bahan	Berat (gram)
Tepung Jagung	615
Gula Pasir	85
<i>Soybean oil</i>	45
Gelatin	65
Kasein	90
CMC	51
Air	500

Bahan yang disiapkan dan ditimbang sesuai dengan komposisi dan jumlah kemudian dicampur. Pakan dibentuk bulatan – bulatan kemudian ditimbang sesuai dengan konsumsi pakan tikus basah yaitu 15% dari BB tikus, pakan tikus diberikan sebanyak 25 gram untuk tiap ekor tikus.

#### 4.7.3 Pemberian Pakan Tikus Diet Tinggi Lemak

Pembuatan pakan dilakukan setiap hari, dengan komposisi pembuatan bahan diet tinggi lemak sebagai berikut.

**Tabel 4.4 Bahan pembuatan diet tinggi lemak (Handayani *et al.*, 2012)**

Bahan	Berat (gram)
Tepung Jagung	550
Gula Pasir	457,5
Konvet	275
Margarin	275
<i>Soybean oil</i>	136
Gelatin	130
Kasein	335
CMC	132,5
Air	375
Asam colat	5
<b>Total</b>	<b>2500</b>

Bahan yang disiapkan dan ditimbang sesuai dengan komposisi dan jumlah kemudian dicampur, air dan gula dipanaskan hingga mendidih dicampur gelatin lalu dicampurkan dengan bahan lain yang sudah dicampur dan setelah itu diaduk rata. Pakan dibentuk bulatan – bulatan kemudian ditimbang sesuai dengan konsumsi pakan tikus basah yaitu 15% dari BB tikus, pakan tikus diberikan sebanyak 25 gram untuk tiap ekor tikus.

#### **4.7.4 Pemberian MSG Pada Tikus**

MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% dicampurkan ke dalam aquades 1 ml dengan dosis yang sesuai dengan kelompok perlakuan. MSG diberikan dengan menggunakan sonde.

#### **4.7.5 Pembedahan tikus dan pengambilan sampel**

Tikus dibedah pada saat tikus mencapai siklus proestrus.

##### **a. Pembedahan tikus dan pengambilan sampel**

1. Tikus dibunuh dengan ketamin 0,2 ml lalu tunggu sampai tikus tidak bergerak lagi atau mati
2. Posisikan tikus pada papan bedah menggunakan *pins*

3. Bedah tikus mulai dari bagian uterus menggunakan gunting bengkok
4. Ambil dan pisahkan organ tuba falopi kanan dan kiri menggunakan gunting lurus
5. Bersihkan organ dari lemak-lemak yang masih menempel dengan hati-hati
6. Cuci organ dengan aquades berulang-ulang hingga bersih dari darah
7. Cuci organ dengan NaCl 0,9% berulang-ulang
8. Amati secara makroskopik organ dan nodul yang tampak, catat jika terdapat perubahan
9. Tiriskan organ diatas kertas saring
10. Setelah air berkurang, timbang dengan cawan petri kering
11. Catat berat masing-masing organ pada kertas blanko
12. Masukkan organ dalam pot berisi formalin 10% dan buffer formalin

#### 4.7.6 Pembuatan Preparat Tuba Falopi

Proses pemotongan jaringan berupa makros dengan cara jaringan penelitian sudah terfiksasi dengan formalin 10 % selama 7 jam sebelum dilakukan proses pengerjaan berikutnya, kemudian jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan lokasi yang akan di teliti, pada penilitan ini lokasi yang dipilih adalah bagian tuba falopi dengan arah irisan longitudinal. Jaringan di potong kurang lebih ketebalan 2-3 mili meter dan di masukan kekaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross peneliti. Jaringan kemudian diproses dengan alat *automatic tissue tex prosesor* selama 90 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

Langkah selanjutnya melakukan proses pengeblokan dan pemotongan jaringan. Jaringan di angkat dari mesin *tissue tex prosesor*, setelah itu jaringan di blok dengan paraffin sesuai kode jaringan. Jaringan di potong dengan alat

*microtome* ketebalan 3-5 mikron. Setelah selesai dilakukan proses deparafinisasi (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron , di taruh dalam oven selama 30 Menit dengan suhu panas 70-80 drajat , kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit, setelah itu di masukan ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

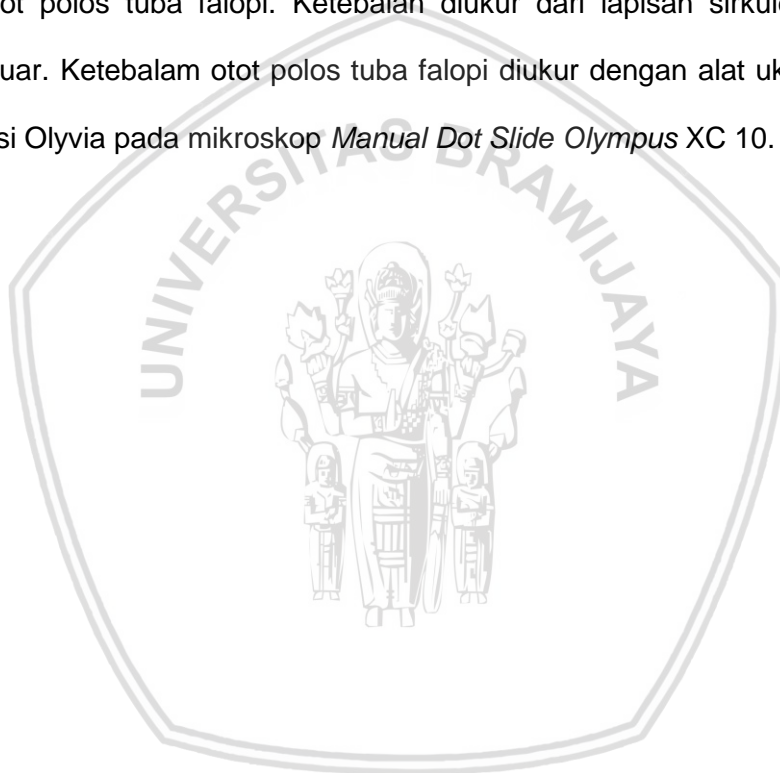
Jaringan yang sudah deparafinisasi dimasukan ke cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 Menit, lalu di cuci dengan air mengalir selama 15 menit, setelah itu dimasukan ke dalam alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup dan setelah itu jika kurang biru maka dicelupkan ke ammonia lithium karbonat sebanyak 3-5 celup dan dimasukan ke eosin selama 10-15 menit. Setelah dilakukan pewarnaan, preparat dimasukan ke dalam alkohol bertingkat yaitu dengan alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol absoud selama 3 menit. Kemudian dilakukan penjernihan (*clearing*) dengan xylol selama 60 menit. Tahap akhir slide / objeckglass ditutup dengan cover glass dan biarkan slide kering pada suhu ruangan setelah slide kring siap untuk diamati (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

#### **4.7.7 Pengamatan Ketebalan Otot Polos dan Sel Epitel Sekretorik Tuba Falopi**

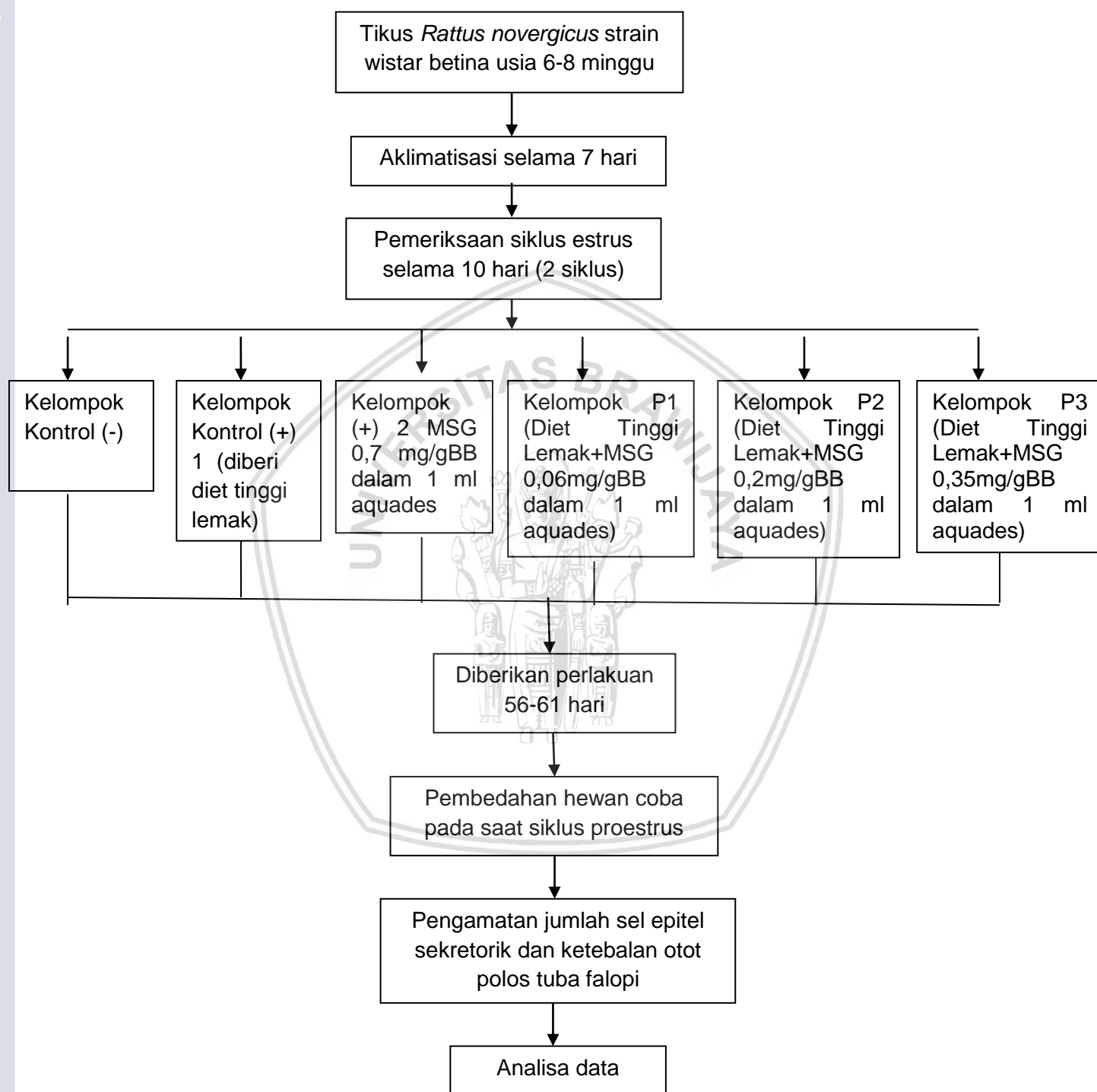
Pemeriksaan histopatologi jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi dengan metode HE perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan dengan satu irisan dibagi 4 kuadran, masing masing kuadran diamati pada 3 lapang pandang sesuai dengan

arah jarum jam untuk sel epitel sekretorik. Total diamati 12 lapang pandang oleh satu peneliti secara langsung melalui aplikasi Olyvia pada mikroskop *Manual Dot Slide Olympus XC 10*.

Pemeriksaan histopatologi tebal lapisan otot polos tuba falopi dengan metode HE perbesaran 100x. Pengamatan dilakukan dengan satu irisan dibagi 4 kuadran, masing masing kuadran diamati pada 3 titik sesuai arah jarum jam untuk otot polos tuba falopi. Ketebalan diukur dari lapisan sirkuler dalam ke sirkuler luar. Ketebalan otot polos tuba falopi diukur dengan alat ukur yang ada di aplikasi Olyvia pada mikroskop *Manual Dot Slide Olympus XC 10*.



#### 4.7.8 Skema Alur Penelitian





#### 4.8 Analisa Data

Data yang dikumpulkan adalah data hasil pemeriksaan histologi tuba falopi secara langsung. Data hasil penelitian yaitu jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi dan ketebalan otot polos tuba falopi. Analisis statistik sebagai berikut.

Data diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Saphiro Wilk* dan homogenitas (*Levene Test*). Apabila didapatkan distribusi data yang normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*, perbedaan dianggap bermakna jika  $p < 0,05$ . Kemudian dilakukan uji *Post Hoc Turkey* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memiliki perbedaan bermakna. Namun apabila didapatkan distribusi data tidak normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, perbedaan dianggap bermakna jika  $p < 0,05$ . Kemudian dilanjutkan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memiliki perbedaan bermakna.

#### 4.9 Etik Penelitian

Masalah etik yang mungkin dihadapi dalam penelitian dengan menggunakan hewan coba ini dapat muncul saat pemberian MSG dengan sonde lambung dan saat pembedahan hewan coba sehingga dapat memunculkan rasa sakit pada hewan coba. Untuk itu, maka dilakukan prinsip 3 R dalam protokol penelitian terhadap hewan coba yaitu (Santoso, 2011):

1. *Replacement* : dalam penelitian ini, hewan coba sebagai subjek digunakan untuk memperoleh bukti efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap tuba falopi.
2. *Reduction* : penelitian ini telah menggunakan jumlah sampel hewan coba minimal berdasarkan rumus Notoadmojo 2010 yaitu  $p(n-1) \geq 15$  dengan  $p$  : jumlah perlakuan,  $n$  : jumlah ulangan. Jumlah perlakuan sebanyak 6

sehingga setiap perlakuan diberikan penambahan 1 kali pengulangan sebagai cadangan sehingga total sampel yang dibutuhkan sejumlah 30 ekor tikus dengan rincian 5 ekor atau 5 pengulangan

3. *Refinement* berarti membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi

a. *Freedom from hunger and thirst*

Memastikan hewan coba tidak kelaparan dan kehausan dengan memberikan makan dan minum secara teratur setiap hari dengan memperhatikan komposisi sesuai dengan kelompok perlakuan serta memantau konsumsi makan setiap hari

b. *Freedom from pain*

Selama perlakuan hewan coba diberikan MSG melalui sonde dengan cara memegang hewan coba pada bagian tengkuk secara hati-hati namun mantap menggunakan ibu jari dan telunjuk sehingga kepala mencit tidak bergerak-gerak dan sonde dapat dimasukan, pada saat pembedahan untuk mengurangi rasa sakit pada hewan dilakukan anastesi terlebih dahulu sebelum pembedahan.

c. *Freedom from injury and disease*

Hewan coba tidak diberikan perlakuan yang menimbulkan nyeri dan penyakit secara langsung. Hewan coba akan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan pada hewan percobaan jika diperlukan dengan catatan pengobatan penyakit tidak mengganggu penelitian

d. *Freedom from distress and feeling discomfort*

Melakukan adaptasi hewan coba pada 7 hari pertama. Tikus diadaptasi di laboratorium Faal FKUB selama 7 hari dan dibagi 6 kelompok. Selama adaptasi tikus diberi pakan standar yang terdiri dari AIN 93-M. Selanjutnya selama perlakuan melakukan perawatan kandang pada hewan coba, pembersihan

kandang, dan penggantian sekam dilakukan setiap 1 kali dalam 2 hari dengan memperhatikan cahaya, suhu, dan kelembaban.

e. *Freedom to express their normal behavior*

Memberikan ruang dan fasilitas kepada hewan coba yang sesuai dengan kehidupan biologi dan tingkah laku tikus, maka penelitian ini menempatkan hewan secara individu dalam setiap kandang.

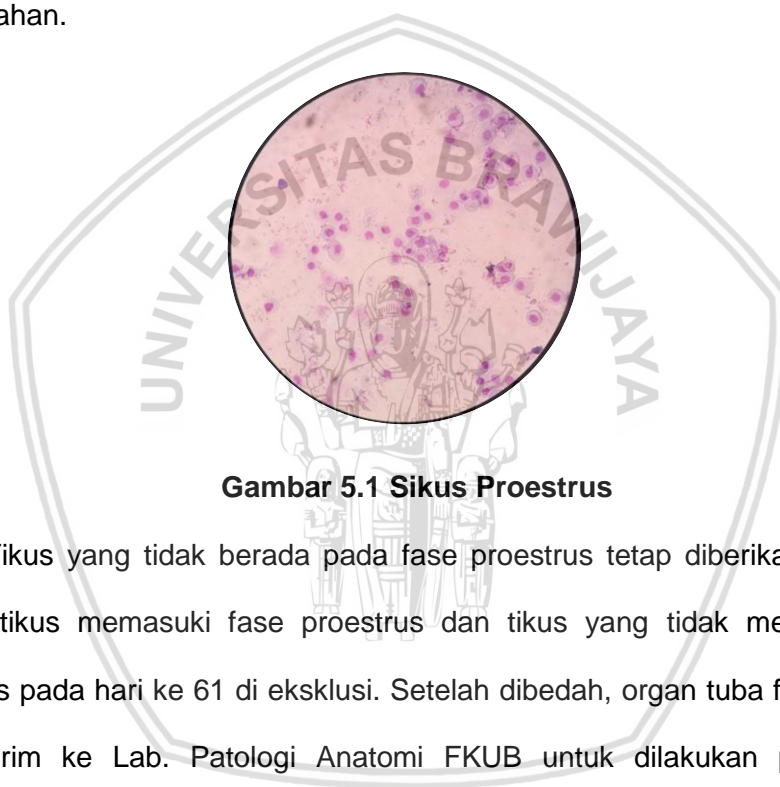


## BAB 5

### Hasil Penelitian

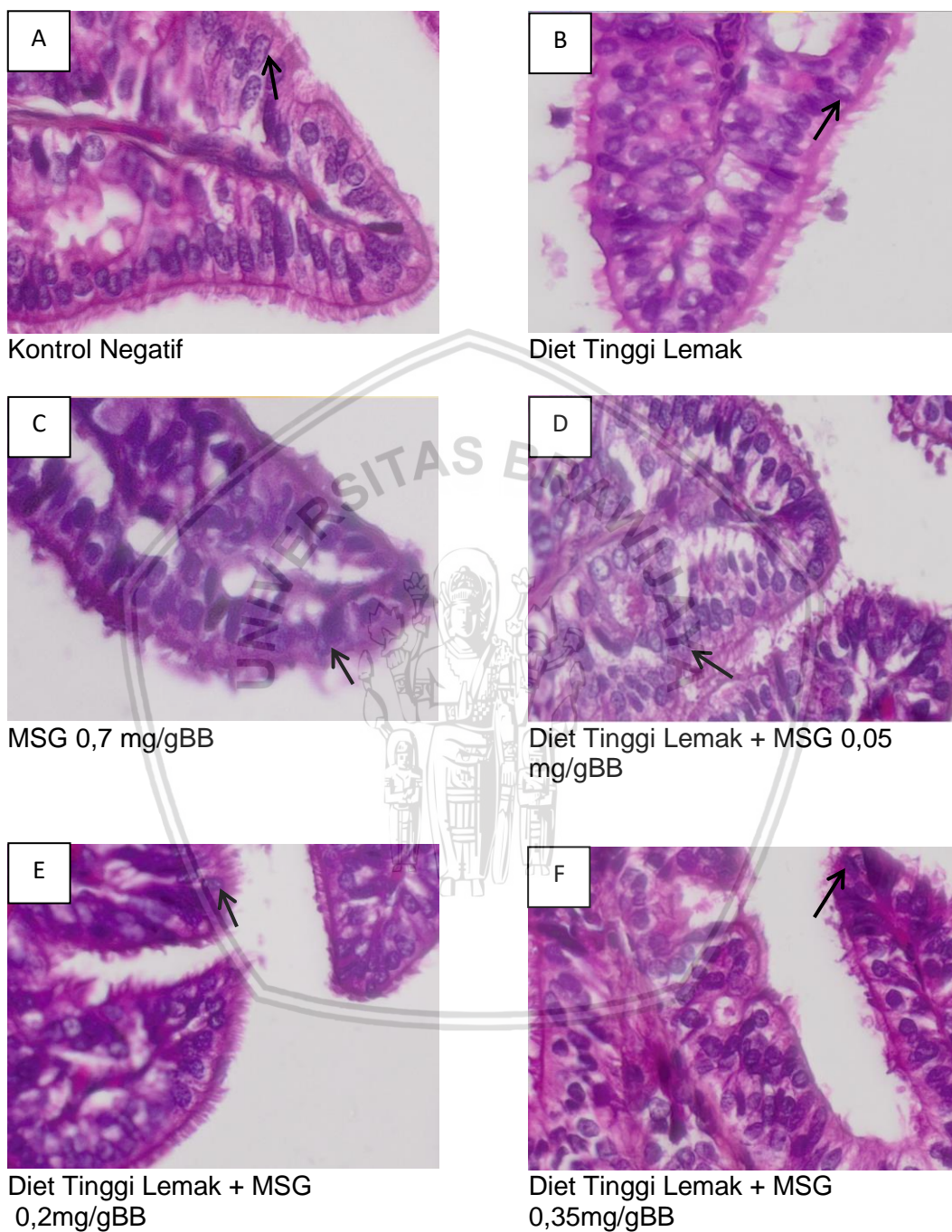
#### 5.1 Pengamatan Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Falopi

Pembedahan tikus dilakukan pada hari ke 56-61 hari. Tikus di swab pada pagi hari, jika tikus berada pada fase proestrus (Gambar 5.1) maka dilakukan pembedahan.



**Gambar 5.1 Sikus Proestrus**

Tikus yang tidak berada pada fase proestrus tetap diberikan perlakuan sampai tikus memasuki fase proestrus dan tikus yang tidak mencapai fase proestrus pada hari ke 61 di eksklusi. Setelah dibedah, organ tuba falopi diambil dan dikirim ke Lab. Patologi Anatomi FKUB untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan metode pengecatan Hemaktosilin dan Eosin yang bertujuan untuk mengetahui jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi, setelah itu slide diamati pada mikroskop per lapang pandang, dapat dilihat pada Gambar 5.2.



**Gambar 5.2 Pemeriksaan histopatologi jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi dengan metode HE perbesaran 40x**

Kontrol negatif (A); K (+1) Diet Tinggi Lemak (B); K(+2) MSG 0,7mg/gBB (C); Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG 0,05mg/Gbb (D); Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG 0,2mg/Gbb (E); Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG 0,35mg/gBB (F). Sel epitel sekretorik dapat dilihat pada tanda panah yaitu sel yang terhimpit diantara sel silia, lebih dekat ke lumen dibanding sel silia dan berbentuk lebih lonjong.



Berikut hasil penghitungan preparat organ tuba fallopi yang dilihat menggunakan mikroskop:

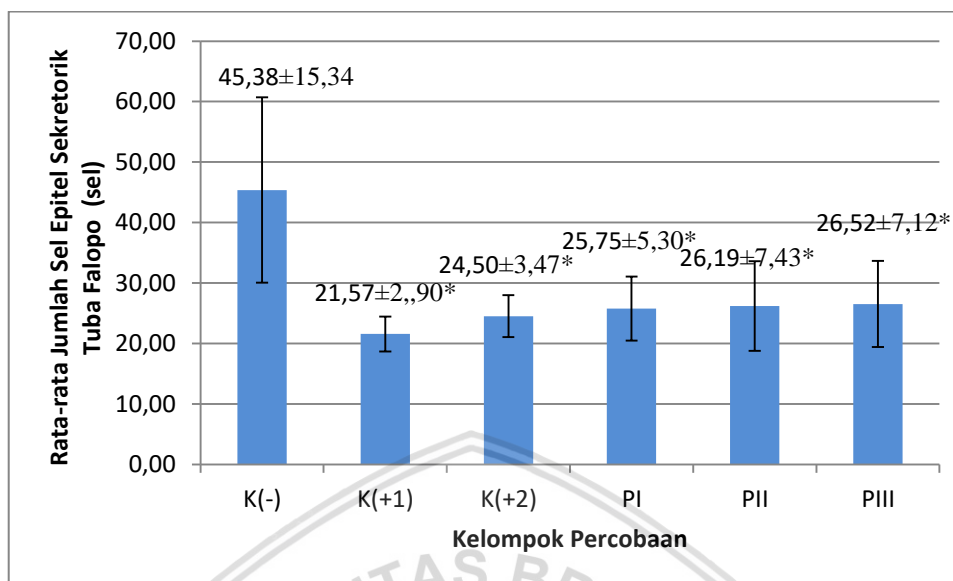
**Tabel 5.1 Sel Epitel Sekretorik Tuba Falopi**

(n)	Kelompok		Perlakuan			
	K(-)	K(+1)	K(+2)	P1	P2	P3
1	42,5	21,25	20	20,75	17,25	20,75
2	67,25	23	25,75	22	33,25	32
3	31,5	24,35	28,25	28,25	31,25	33,33
4	40,25	17,66	24	32	23	20
Rerata	45,38	21,57	24,5	25,75	26,19	26,52
±SD	15,34	2,90	3,47	5,3	7,43	7,12

Pengujian jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi tikus dengan 6 kelompok perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji *one way* ANOVA yang telah memenuhi syarat uji normalitas ( $p > 0,05$ ) dan homogenitas ( $p > 0,05$ ). Analisis statistik dalam penelitian ini dilakukan menggunakan *SPSS 19.0 for Windows*.

Untuk menguji apakah kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat mempengaruhi sel epitel sekretorik tuba fallopi signifikan atau tidak, maka dilakukan pengujian dengan *one way* ANOVA ( $p=0,718$ ) sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap sel epitel sekretorik tuba fallopi jika dibandingkan dengan K(+). Pada pengujian *one way* ANOVA jika dibandingkan dengan kontrol negatif maka secara keseluruhan terdapat penurunan yang signifikan pada rerata jumlah sel epitel sekretorik ( $p=0,008$ ). Rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi pada setiap perlakuan dijelaskan dalam gambar berikut:





**Gambar 5.3 Perbandingan rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi**

Menunjukkan bahwa terdapat penurunan sel epitel sekretorik tuba falopi pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif ( $p$ -value < 0,05 adalah bermakna (\*) ).

Selanjutnya dilakukan uji statistik untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi, dilakukan uji lanjut *post hoc test* dengan menggunakan uji LSD. Hasil pengujian LSD dapat dilihat pada tabel 5.5.

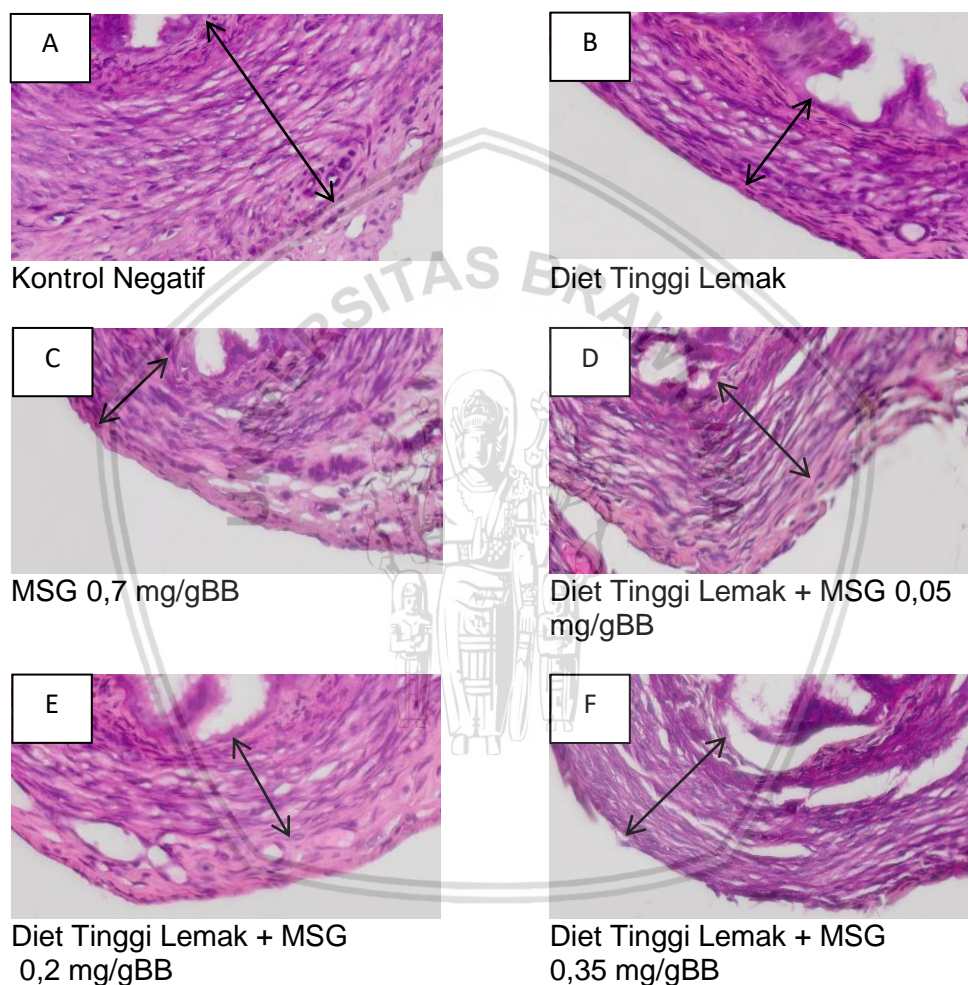
**Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Sel Epitel Sekretorik Tuba Falopi**

$p$ -value	K(-)	K(+1)	K(+2)	KP1	KP2	KP3
K(-)		0,006*	0,019*	0,029*	0,034*	0,039*
K(+1)			0,995	0,975	0,962	0,949
K(+2)				1,0	1,0	0,999
KP1					1,0	1,0
KP2						1,0
KP3						

$p$ -value < 0,05 adalah bermakna (\*)

## 5.2 Pengamatan Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi

Pemeriksaan histopatologi dengan metode pengecatan Hemaktosilin dan Eosin yang bertujuan untuk mengetahui ketebalan sel otot polos tuba falopi yang diamati pada mikroskop per lapang pandang, dapat dilihat pada Gambar 5.3.



**Gambar 5.4 Pemeriksaan histopatologi sel otot polos tuba falopi dengan metode HE perbesaran 10x.**

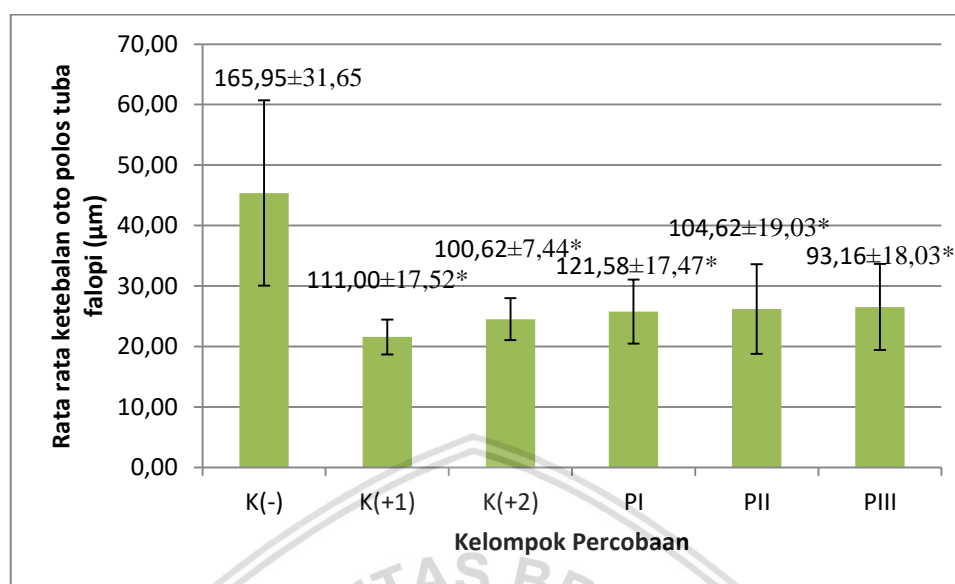
Kontrol negatif (A); K (+1) Diet Tinggi Lemak (B); K(+2) MSG 0,7mg/gBB (C); PI Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG 0,05mg/gBB (D); Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG 0,2mg/Gbb (E); Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG 0,35mg/Gbb (F). Garis panah menunjukan otot polos tuba falopi terdiri dari lapisan sirkuler dalam dan longitudinal luar

Berikut hasil penghitungan preparat organ tuba falopi yang dilihat menggunakan mikroskop:

**Tabel 5.3 Otot Polos Tuba Falopi**

(n)	Kelompok Perlakuan					
	K(-)	K(+1)	K(+2)	P1	P2	P3
1	161,63	121,16	95,21	130,93	98,03	95,77
2	142,55	114,21	93,59	140,14	99,49	113,99
3	211,87	123,26	104,64	114,47	88,7	92,83
4	147,75	85,37	109,05	100,78	132,24	70,05
Rerata	165,95	111	100,62	121,58	104,62	93,16
±SD	±31,65	±17,52	±7,44	±17,47	±19,03	±18,03

Untuk menguji apakah kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat mempengaruhi tebal lapisan otot polos tuba falopi signifikan atau tidak, maka dilakukan pengujian dengan *one way ANOVA* ( $p=0,200$ ) sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap tebal lapisan otot polos tuba falopi jika dibandingkan dengan K(+). Pada pengujian *one way ANOVA* jika dibandingkan dengan kontrol negatif maka secara keseluruhan terdapat penurunan yang signifikan pada rerata ketebalan otot polos tuba falopi ( $p=0,001$ ). Rerata tebal lapisan otot polos tuba falopi pada setiap perlakuan dijelaskan dalam gambar berikut



**Gambar 5.5 Perbandingan rerata tebal lapisan otot polos tuba falopi**

Menunjukkan bahwa terdapat penipisan tebal lapisan otot polos tuba falopi jika dibandingkan dengan kontrol negatif ( $p\text{-value} < 0,05$  adalah bermakna (\*)).

Selanjutnya dilakukan uji statistik untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rerata tebal lapisan otot polos tuba falopi, dilakukan uji lanjut *post hoc test* dengan menggunakan uji LSD. Hasil pengujian LSD dapat dilihat pada tabel 5.5.

**Tabel 5.4 Hasil Uji LSD Tebal Otot Polos Tuba Falopi**

<i>p-value</i>	K(-)	K(+1)	K(+2)	KP1	KP2	KP3
K(-)		0,001*	0,000*	0,005*	0,000*	0,000*
K(+1)			0,468	0,460	0,654	0,219
K(+2)				0,152	0,779	0,601
KP1					0,242	0,058
KP2						0,424
KP3						

$p\text{-value} < 0,05$  adalah bermakna (\*)

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, pada setiap kelompok yang diberi perlakuan pemberian diet tinggi lemak, MSG (0,7mg/gBB) serta kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis (0,05mg/gBB, 0,2mg/gBB, 0,35mg/gBB) terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi ( $p=0,008$ ) dan ketebalan otot polos tuba falopi ( $p=0,001$ ) jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Rerata jumlah sel epitel sekretorik dan ketebalan otot polos tuba yang mendapat perlakuan diet tinggi lemak, MSG serta kombinasi diet tinggi lemak dan MSG lebih rendah jika dibandingkan pada kelompok negatif. Pada penelitian ini dapat dilihat pada kedua kelompok kontrol positif tidak terdapat perbedaan pada jumlah sel epitel sekretorik ( $p=0,995$ ) dan ketebalan otot polos tuba falopi ( $p=0,468$ ) hal tersebut dapat membuktikan terdapat efek yang sama pada konsumsi diet tinggi lemak saja dan MSG dosis 0,7mg/gBB terhadap jumlah sel epitel sekretorik dan ketebalan otot polos tuba falopi.

Pada penelitian ini jika kelompok kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dosis rendah dibandingkan dengan kontrol positif satu yang hanya mendapat diet tinggi lemak dan kontrol positif dua yang mendapat MSG 0,7mg/gBB maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata jumlah sel epitel sekretorik ( $p=0,718$ ) dan ketebalan otot polos tuba falopi ( $p=0,200$ ). Namun, pada kombinasi diet tinggi lemak dan MSG tetap mengalami penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan penipisan otot polos tuba falopi meskipun dengan dosis



MSG yang lebih rendah dari dosis toksik yaitu 0,7mg/gBB. Hal tersebut terjadi karena pengaruh pemberian diet tinggi lemak pada kelompok kombinasi, dapat dilihat berdasarkan hasil uji LSD rata rata jumlah sel epitel sekretorik pada kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol positif satu tidak terdapat perbedaan yang signifikan (KP1  $p=0,975$ , KP2  $p=0,962$ , KP3  $p=0,949$ ). Ketebalan otot polos tuba falopi pada kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol positif satu juga tidak terdapat perbedaan yang signifikan (KP1  $p=0,460$ , KP2  $p=0,654$ , KP3  $p=0,219$ ).

Penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan penipisan otot polos tuba falopi dapat disebabkan oleh peningkatan konsumsi MSG. Peningkatan glutamat bebas dalam tubuh menyebabkan terjadinya disfungsi neuroendokrin pada tikus. Disfungsi neuroendokrin tersebut berhubungan dengan hilangnya reseptor estrogen terutama di hipotalamus, paling banyak ditemukan pada bagian *arcuata-median eminence*. Gangguan pada bagian *nucleus arkuata* di hipotalamus menyebabkan penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi FSH dan LH gonadotropin. LH bekerja pada sel teka untuk merangsang produksi androgen, sementara FSH bekerja pada sel granulosa untuk meningkatkan konversi androgen teka menjadi estrogen. Laju sekresi estrogen oleh folikel terutama bergantung pada kadar LH dalam darah yang terus meningkat selama fase folikular. Selain itu, seiring dengan semakin tumbuhnya folikel, lebih banyak estrogen diproduksi karena sel folikel penghasil estrogen bertambah. Namun, pada keadaan penurunan FSH dan LH dapat terjadi gangguan pertumbuhan folikel sehingga folikel penghasil estrogen berkurang yang menyebabkan kadar estrogen menurun. Gangguan pada estrogen dapat menyebabkan menurunnya stimulasi diferensiasi sel kolumnar yang menyebabkan penurunan sel epitel



sekretorik. Penurunan jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi berhubungan dengan radang panggul yang dihubungkan dengan kejadian infertilitas wanita.

Penurunan kadar estrogen dapat menyebabkan meningkatnya stress oksidatif dikarenakan estrogen berperan sebagai *free radical scavenger* dan dapat menginduksi antioksidan enzimatis endogen (Karelis, *et al.*, 2005). Stres oksidatif yang berkepanjangan dapat menyebabkan terjadinya apoptosis sel. Hal ini diduga menyebabkan terjadinya penurunan ketebalan otot polos karena kerusakan sel otot polos. Penipisan pada lapisan otot polos tuba falopi dapat menurunkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju uterus (Umami *et al.*, 2014). Hal tersebut juga dapat terjadi pada pemberian diet tinggi lemak. Akumulasi lemak pada *viscera* abdomen ini dapat menyebabkan peningkatan resistensi insulin. Hiperinsulinemia akan menekan kadar *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) sehingga kadar androgen bebas meningkat. Tingginya kadar androgen akan mengganggu sistem aromatase di dalam sel granulosa. Proses aromatisasi androgen menjadi estradiol akan terganggu, sehingga akan menyebabkan penurunan estrogen dan terjadi penumpukan androgen yang tidak teraromatisasi. Sehingga dapat terjadi perubahan hormon estrogen yang dapat menurunkan umpan balik estrogen terhadap hipotalamus (Speroff, 2011). Selain itu, diet tinggi lemak dapat menyebabkan stress oksidatif. Diet tinggi lemak dapat meningkatkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut (Murray *et al.*, 2009).

Tuba falopi berfungsi sebagai penghubung antara ovarium dan uterus mengantarkan sperma dari uterus ke tempat fertilisasi, memfasilitasi lingkungan optimal untuk sperma dan membantu kapasitas, memindahkan embrio

menggunakan kontraksi muskular dan perpindahan oleh silia, tempat embrio berkembang sempurna, pemberi sinyal antara embrio dan sisi maternal. Fisiologi tuba falopi dalam transport dan perkembangan ovum (dan zigot) dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu aksi siliar, kontraksi muskular, dan aliran cairan tuba. Hormonal dan neural mempengaruhi aksi faktor-faktor di atas, khususnya kontraktilitas otot (Karkun, 1853). Gangguan pada sistem hormonal yang terjadi akibat pemberian diet tinggi lemak dan MSG pada penelitian ini juga dapat mempengaruhi kadar progesteron dimana keterbatasan LH dan FSH dalam menstimulasi organ target yakni ovarium dalam melakukan regulasi hormonal secara langsung dapat berakibat pada penurunan kadar estrogen dan progesteron (Al-Asmakh, 2007). Kadar progesteron tinggi dalam fase luteal menyebabkan relaksasi dari otot melingkar sehingga dapat menyebabkan diameter luminal istmus meningkat (Hershlag *et al.*, 1989). Pada pemberian diet tinggi lemak dan MSG dapat menyebabkan penurunan kadar progesteron sehingga dapat menyebabkan berkurangnya diameter otot polos tuba falopi.

Efek toksik pemberian MSG telah dibuktikan dengan beberapa penelitian pada hewan. Pada penelitian Abbasi *et al.* (2016), pemberian MSG pada tikus betina (*Sprague dawley*) mengakibatkan peningkatan berat ovarium, degenerasi sel granulosa dan penurunan jumlah folikel primer. Perubahan patologis khususnya pada tuba telah dibuktikan pada beberapa penelitian seperti pada penelitian Eweka *et al.* (2010), pemberian MSG 0,08 mg/kg MSG yang dicampur dengan *growers' mash* terbukti terjadi hipertrofi selular dari epitel kolumnar, distorsi dari membran dasar yang memisahkan endosalpink dari miosalpink dan lisis pembuluh darah. Efek lain MSG terhadap tuba dibuktikan oleh Umami *et al.* (2014) yaitu pemberian MSG 0,7 mg/gBB menunjukkan penurunan jumlah sel

epitel sekretorik dan penipisan sel otot polos tuba falopi. Berdasarkan beberapa penelitian, metode pemberian dan dosis pada penelitian hewan tidak sama dengan konsumsi MSG pada manusia (Husarova dan Ostatnikova, 2013).

Dosis rendah MSG yang tidak menimbulkan efek toksis telah dibuktikan pada penelitian Ibegbulem *et al* (2016) membuktikan bahwa tikus wistar yang diberikan MSG dosis rendah tidak menyebabkan peningkatan konsentrasi estradiol dan testosteron dalam darah. Hal ini disebabkan karena secara normal glutamat merupakan salah satu asam amino non esensial yang ada di dalam tubuh yang disintesis dari  $\alpha$ -ketoglutarat (Murray *et al*, 2009). Namun berdasarkan hasil penelitian ini, pemberian MSG dosis rendah jika dikombinasikan dengan diet tinggi lemak akan tetap memberikan efek stres oksidatif dan perubahan hormon dikarenakan adanya efek diet tinggi lemak yang dominan dibanding MSG dosis rendah.

Kekurangan pada penelitian ini adalah pengamatan jumlah sel epitel sekretorik yang hanya dilakukan oleh satu pengamat sehingga dapat menimbulkan objektivitas jumlah sel epitel sekretorik. Selain itu, pemberian diet tinggi lemak diberikan bertujuan untuk meningkatkan kadar lemak secara berlebih dan belum diketahui apakah konsumsi lemak harian yang diberikan pada diet tinggi lemak di tikus sesuai dengan konsumsi harian lemak manusia. Namun berdasarkan analisis survey makanan individu 2014 menunjukkan 27 persen penduduk Indonesia sudah melebihi batas rekomendasi lemak total perhari yaitu 67 gram/hari (Atmarita *et al.*, 2015). Maka dari itu diharapkan hasil penelitian ini dapat dijadikan landasan peningkatan kewaspadaan masyarakat dalam konsumsi diet tinggi lemak secara berlebihan terhadap kesehatan reproduksi.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

- 7.1.1 Pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis mempengaruhi rata rata jumlah sel epitel sekretorik tuba falopi pada tikus wistar *Rattus novergicus*.
- 7.1.2 Pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis mempengaruhi ketebalan otot polos tuba falopi pada tikus wistar *Rattus novergicus*.

#### 7.2 Saran

- 7.2.1 Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan perbedaan lama paparan dan usia tikus terhadap kombinasi diet tinggi lemak dan MSG.
- 7.2.2 Penelitian pengaruh kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat dilanjutkan dengan mengkawinkan tikus sehingga diketahui lebih jauh mengenai infertilitas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi S., Rana R., Anjum K. Effect of Vitamin C on Monosodium Glutamate (Ajinomoto) Induced Changes in the Ovary of Rats. *Journal Islamic International Medical College*, 2016, 11 (2): 66-70.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*, Adabia Press, Jakarta, hal. 1-47.
- Al-Asmakh, M. 2007. Reproductive Function of Progesterone. *Middle East Fertility Society Journal*. 12(3): 147-152.
- Al-Azemi, M.; Refaat, B.; Amer, S.; Ola, B.; Chapman, N.; Ledger, W. The expression of inducible nitric oxide synthase in the human fallopian tube during the menstrual cycle and in ectopic pregnancy. *Fertil. Steril.* 2010, 94, 833–840.
- Almeida., Camila C.D. Estrous Cycle in Anatomy and Hystology of The Uterine Tube of The Mongolian Gerbil. *Departement of Anatomy Institute of Bioscience UNESP*. 2001, 19 (2): 191-196.
- Andarwulan N., Nuraida L., Madanijah S., Lioe H.N., Zulaikhah. Free Glutamate Content of Condiment and Seasonings and Their Intake in Bogor and Jakarta, Indonesia. *Food and Nutrition Sciences*. 2011, 2: 764-769.
- Anggara, R. 2009. Pengaruh Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomea reptans Poir*) terhadap Efek Sedasi pada Memncit Balb/c. *Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Anwar M., Baziad A., Prabowo P., 2011. *Ilmu Kandungan*. Edisi Ketiga, PT. Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta, hal. 15-16.
- Atmarita., Abas B.J., Sudikno., Moesijanti S. Asupan Gula, Garam, dan Lemak di Indonesia: Analisis Survei Konsumsi Makanan Individu (SKMI) 2014. *Journal of the Indonesian Nutrition Association*, 2016, 39(1): 1-14.
- Bryan, N.S.; Bian, K.; Murad, F. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. *Front. Biosci.* 2009, 14, 1–18.

Byers, S.M., Wiles, M.V., Dunn, S.L., Taft, R.A. Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. *PLoS ONE*, 2012, 7 (4): e35538.

Collison, Kate, et al. Effect of Dietary Monosodium Glutamate on HFCS-induced Hepatic Steatosis: Expression Profiles in The Liver and Visceral Fat. *Obesity*, 2010, 18:1122–1134.

El-Mowafi, D.M., 2012. Fallopian Tube. Reproductive Endocrinology and Infertility.USA. [http://www.gfmer.ch/International\\_activities/En/El\\_Mowafi/Fallopian\\_tube.htm](http://www.gfmer.ch/International_activities/En/El_Mowafi/Fallopian_tube.htm).

Eweka, O.S., Eweka, A., Iniabobs, F.A.E. Histological Studies of The Effect of MSG of The Fallopian Tubes of Adult Female Wistar rats. *North Am J Med*, 2010, 2 (3): 146-149.

George, B., Kumaran, B. Protective Effect of Nigella Sativa Oil and Astaxanthin on Monosodium Glutamate Induced Dyslipidemia in Rats. *International Archive of Applied Sciences and Technology India*, 2015, 6 (4): 1-7.

Handayani, D., Meyer, B.J., Chen, J., Tang, P., Chan, H.K., Huang, X.F. The Comparison of the Effect of Oat and SShtake Mushroom Powder to Prevent Body Weight Gain in Rats Fed High Fat Diet. *Food and Nutrition Science*, 2010, 3: 1009-1019.

Hedrich HJ. Taxonomy and stock and strains. *J Lab Rat*, 2006 : 71-92.

Heriansyah, Teuku. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lipid Tikus Putih ( *Rattus novvergicus* strain wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 2013, 13 (3): 144-150.

Hershlag, A., Diamond, M.P., dan DeCherney, A.H. Fisiologi Tuba: Sebuah Penilaian, *Journal Gynecol. Surg.* 5, 1989, 2-25.

Husarova V., Ostatnikova D. Monosodium Glutamate Toxic Effect and Their Implication for Human Intake: A Review *in* U. Arslan (Ed), *JMED Research*, 2013, 1-12.

Ibegbulem C.O., Chikezie P.C., Ukoha A.I., Opara C.N. Effect of Diet Containing Monosodium Glutamate on Organ Weights, Acute Blood Steroidal Sex Hormone Levels, Lipid Profile and Erythrocyte Antioxidants Enzymes Activities of Rats. *Journal of Acute Disease*, 2016, 5(5): 402-407.



- Jasda A., Winarto., Kristina T.N. Pemberian Virgin Coconut Oil Untuk Meningkatkan Jumlah Dan Motilitas Spermatozoa: Studi Pada Tikus Wistar Dengan Diet Tinggi Lemak. *Penel Gizi Makan*, 2014, 37(2): 161-167.
- Jungheim E.S., Travieso J.L., Hopeman M.M. Weighing The Impact of Obesity on Female Reproductive Function and Fertility. *Nutr Rev*, 2013, 71(01): . doi:10.1111/nure.12056.
- Kandarakis E.D., Papalou O., Kandaraki E.A. Nutrition as a Mediator of Oxidative Stres in Metabolic and Reproductive Disorders in Women. *European Journal of Endocrinology*, 2017, 176:R79–R99
- Karkun,J N. Physiology of The Fallopian Tube. Central Drug Research Institute. 1853
- Karsiyah. Analisis Faktor yang Berhubungan Dengan Infertilitas (Di Wilayah Kecamatan Way Seputih, Kabupaten Lampung Tengah Tahun 2014). *Jurnal Kebidanan Adila Bandar Lampung*, 2015, 12: 40-50.
- Kengni N., Matafack D., Lienon L. [Effect of \*Laportea ovalifolia\* \(Urticaceae\) on Monosodium Glutamate Induced Obese Rats.](#) *African Journal of Integrated Health*, 5 (2): 2015.
- Kwan P., 2003. Oviduct at Low Power. Tufts University, USA. [ocw.tufts.edu/Content/4/CourseHome/221179/221193](http://ocw.tufts.edu/Content/4/CourseHome/221179/221193).
- Kim, B.H.; Kim, C.H.; Jung, K.Y.; Jeon, B.H.; Ju, E.J.; Choo, Y.K. Involvement of nitric oxide during in vitro fertilization and early embryonic development in mice. *Arch. Pharm. Res.* 2004, 27, 86–93.
- Lowe J.S and Anderson P.G., 2014. *Stevens & Lowe's Human Histology*, Fourth Edition., Elsevier Mosby, Philadelphia.
- Malole M.B.M., Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.
- Marks D.B., Marks A.D., Smith C.M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. EGC, Jakarta.

- Mascarenhas M.D., Flaxman S.R., Boerna T., Vanderpoel S., Stevens G.A. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *Journal of PLOS*, 2012, 9: 1-12.
- McNamara JP. 2006. *Principles of Companion Animal Nutrition*. Pearson Education, Upper Saddle River New Jersey.
- Megawati, D., Sutarno., Listyawati, S., 2005. Siklus Estrus Dan Struktur Histologi s Ovarium Tikus Putih Setelah Pemberian MSG Secara Oral. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS). *Bio Smart* 7 (1): 47-52.
- Murray R.K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. Biokimia Harper, Edisi 27., EGC, Jakarta.
- Notoatmodjo S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta
- Partodiharjo S., 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*, Mutiar Jakarta.
- Paul MV., Abhilash M., Varghese MV., Alev M, Nair RH. Protection effects of alpha-tocopherol against oxidative stres related to nephrotoxicity by monosodium glutamate in rats. *Toxicol Mech Methods*, 2012, 22(8) 635-630.
- Santoso, I.E. 2011. *Buku Ajar Etik Penelitian Kesehatan*, Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Satyanegara., 2010. Ilmu Bedah Saraf, Edisi Keempat, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Shah S.S., Shah G.B., Singh S.D., Gohil P.V., Chauhan K., Shah K.A., Chorawala M. Effect of piperine in the regulation of obesity-induced dyslipidemia in high-fat diet rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 2011, 43(3): 296-299.
- Sharma S., Biedeharm K.R., Fedor J.M., Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2013, 11: 66.

Sherwood, L., 2011. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Edisi Keenam, EGC, Jakarta.

Shier D., Butter J., Lewis R., 2007. *Hole's Human Anatomy & Physiology*, Eleventh Edition, McGraw-Hill, America.

Slomianka L., 2009. Blue Histology – Female Reproductive System, Western Australia.

<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/corepages/femalerepro/femalerepro.htm>

Smith JB dan S Mangkoewidjojo., 1988. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Speroff L, Marca AF. 2011. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Edisi Ke-8. Baltimore, USA: William Lippincot and Wilkins.

Sumardjo, Damin. 2008. Pengantar Kimia: Buku Panduan Mahasiswa Kedokteran Dan Mahasiswa Strata 1 Bioeksakta. EGC, Jakarta

Thompson LP & Al-Hasan Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. *Journal of Pregnancy* 2012 **2012** 582748. (doi:10.1155/2012/582748)

Tufts University, 2005. Epithelium of oviduct mucosa.

<http://ocw.tufts.edu/Content/4/coursehome/221179/221194>.

Umami R., Made P.D., Winarsih. Pengaruh Vitamin C dan E terhadap Histologi Tuba Fallopii pada Tikus yang Dipapar MSG. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Agustus 2014, 28 (2) :63-67.

University of New England. 2005. Histology LAB XVI – Female Reproductive System. Faculty. [une.edu/com/abell/histo/histolab34.htm](http://une.edu/com/abell/histo/histolab34.htm).

U.S. Department of Health and Human Service, "FDA and Monosodium Glutamate. Food and Drug Administration, FDA Backgrounder." 1995. <http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/msg.html>

Wallace JP, Johnson B, Padilla J & Mather K. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *International Journal of Clinical Practice* 2010 **64** 389–403. (doi:10.1111/j.1742- 1241.2009.02146.x)

Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I.M., Prasetyo E. 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. <http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKMK/article/download/149/150>,

